

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1939

THÈSE

N° 460

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

LAVERGNE Henri

Né le 10 août 1907 à Bergerac (Dordogne)

POUVOIR BACTÉRICIDE DU SANG ET HÉMOCULTURE

(ACTION DU CITRATE DE SOUDE, DE L'OXALATE DE SOUDE,
DU POLYANÉTHOL SULFONATE DE SOUDE)

Président : M. P. CARNOT, Professeur.

BERGERAC

IMPRIMERIE GÉNÉRALE DU SUD-OUEST (H. TRILLAUD)

1939

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1939

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

LAVERGNE Henri

Né le 10 août 1907 à Bergerac (Dordogne)

POUVOIR BACTÉRICIDE DU SANG
ET HÉMOCULTURE

(ACTION DU CITRATE DE SOUDE, DE L'OXALATE DE SOUDE,
DU POLYANÉTHOL SULFONATE DE SOUDE)

Président : M. P. CARNOT, Professeur.

BERGERAC

IMPRIMERIE GÉNÉRALE DU SUD-OUEST (H. TRILLAUD)

1939

I. — PROFESSEURS

MM.

Anatomie	ROUVIÈRE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale.	STROHL.
Chimie médicale	POLONOVSKI.
Bactériologie	Robert DEBRÉ.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales.	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	ABRAMI.
Pathologie chirurgicale	MONDOR.
Anatomie pathologique	LEROUX.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	HARVIER.
Hygiène et médecine préventive.	TANON.
Médecine légale.	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.	LAIGNEL-LAVASTINE.
Pathologie expérimentale et comparée.	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie.	CHIRAY.
	LOEPER.
Clinique médicale.	CARNOT.
	CLERC.
	Marcel LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	LEMIERRE.
	CUNÉO.
Clinique chirurgicale.	GOSSET.
	GRÉGOIRE.
	LENORMANT.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	CHEVASSU.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements	JEANNIN.
	LÉVY-SOLAL.
Clinique gynécologique	MOCQUOT.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	M. VILLARET.
Clinique de la Tuberculose	TROISIER.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	MATHIEU.
Clinique de cardiologie	LAUBRY.
Clinique de neuro-chirurgie.	Clovis VINCENT.
Assistance Médico-sociale.	N...
	HAZARD.
Professeurs sans chaire	HOVELACQUE.
	MULON.
	OLIVIER.
	SANNIÉ.
	VERNE.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

AMELINE . . .	Pathologie chirurgicale.
BARIÉTY . . .	Pathologie médicale.
BÉNARD (Henri) .	Pathologie médicale.
BERNARD Étienne.	Pathologie médicale.
BESANÇON (Justin).	Hydrologie.
BOULIN . . .	Pathologie médicale.
BULLIARD . . .	Histologie.
CATHALA . . .	Pathologie médicale.
CHEVALLIER . .	Pathologie médicale.
COSTE . . .	Pathologie médicale.
DOGNON . . .	Physique.
FEY . . .	Urologie.
FÜNCK . . .	Pathologie chirurgicale.
GALLIARD . . .	Parasitologie.
GASTINEL . . .	Bactériologie.
DE GAUDART D'ALLAINES.	Pathologie chirurgicale.
GAYET . . .	Physiologie.
DE GENNES . . .	Pathologie médicale.
GIROUD . . .	Histologie.
HAGUENAU . . .	Pathologie médicale.
HALPHEN . . .	Oto-rhino-laryngologie.
HUGUENIN . . .	Anatomie pathologique.
JOANNON . . .	Hygiène.
LACOMME . . .	Obstétrique.

MM.

LANTUÉJOUL . .	Obstétrique.
LAROCHE (Guy) .	Pathologie médicale.
LAVIÈR . . .	Parasitologie.
LELONG . . .	Pathologie médicale.
LEMAIRE . . .	Pathologie expérimentale.
LEVEUF . . .	Pathologie chirurgicale.
Mlle J. LÉVY . .	Pharmacologie.
LÉVY-VALENSI .	Neurologie et Psychiâtrie.
MÉNÉGAUX . . .	Pathologie chirurgicale.
MOLLARET . . .	Pathologie médicale.
MOREAU . . .	Pathologie médicale.
MOULONGUET . .	Pathologie chirurgicale.
MOUQUIN . . .	Pathologie médicale.
PETIT-DUTAILLIS .	Pathologie chirurgicale.
PIÉDELIÈVRE . .	Médecine légale.
PORTES . . .	Obstétrique.
RENARD . . .	Ophthalmologie.
RICHER . . .	Physiologie.
SÉNÈQUE . . .	Pathologie chirurgicale.
TURPIN . . .	Pathologie médicale.
VIGNES . . .	Obstétrique.
WILMOTH . . .	Pathologie chirurgicale.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

ALGLAVE . . .	Pathologie chirurgicale.
BUSQUET . . .	Pharmacologie.
CHAILLEY-BERT.	Physiologie.
GUÉNIOT . . .	Obstétrique.
HEITZ-BOYER . .	Pathologie chirurgicale.

MM.

LARDENNOIS . .	Pathologie chirurgicale.
LE LORIER . . .	Obstétrique.
NEVEU-LEMAIRE.	Parasitologie.
SCHWARTZ . . .	Pathologie chirurgicale.
VAUDESCAL . . .	Obstétrique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent

MM.		MM.	
ALAJOUANINE	} Clinique médicale.	BASSET. . .	} Clinique chirurgicale.
AUBERTIN. .		BROCQ. . .	
BRULÉ. . .		CADENAT. .	
CHABROL. .		GATELLIER. .	
DONZELOT. .		MOURE. . .	
DUVOIR. . .		QUENU. . .	
LIAN. . . .		VELTER. . .	
PASTEUR-VALLERY- RADOT. . .			
SÉZARY. . .			

MM.

ESCALLE. . .	} Clinique obstétricale.
METZGER. . .	

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.

CHAILLEY-BERT, agrégé. . .	Éducation physique.
LEDOUX-LEBARD.	Radiologie clinique.
RUPPE.	Stomatologie.
WEIL-HALLÉ.	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans des dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON GRAND-PÈRE
HYPPOLYTE LAVERGNE

A MON PÈRE, A MA MÈRE, A MA GRAND'MÈRE

A MA FEMME, A MON FILS

AUX MIENS ET A MES AMIS

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE,

MONSIEUR LE PROFESSEUR PAUL CARNOT,

Professeur de Clinique médicale
à la Faculté de Médecine de Paris
Membre de l'Académie de Médecine
Officier de la Légion d'honneur

*qui m'a fait le très grand honneur de me confier un de ses laboratoires
et m'a permis de persévérer dans la voie de la recherche.*

*En témoignage de respectueuse affection
et de sincère admiration.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR CAROLI,

Médecin des Hôpitaux de Paris,

qui fut pour moi un maître et un ami.

*Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude
et de ma sincère amitié.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR L. TIXIER,

Médecin de l'Hôpital des Enfants Malades,

*qui me reçut, m'instruisit et me soigna dans son service
au cours d'une grave maladie.*

En témoignage de ma grande reconnaissance.

A MONSIEUR LE DOCTEUR GUILLEMOT,

Médecin de l'Hôpital Bretonneau.

*Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance
pour m'avoir accueilli dans son laboratoire
et permis de m'initier aux techniques de la bactériologie
en profitant de sa grande expérience personnelle.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR DEBRÉ,
Professeur de bactériologie à la Faculté de Médecine,
Médecin de l'Hôpital Hérold,

que je remercie vivement pour sa bienveillance à mon égard.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR A. DOGNON,

en très cordial hommage.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR HENRI BENARD,
Médecin de l'Hôpital de l'Hôtel-Dieu,

dont les conseils me furent toujours précieux.

A MONSIEUR LE DOCTEUR H. BONNET,

Chef des travaux de bactériologie à la Faculté de Médecine.

*En témoignage de ma très grande gratitude
pour l'appui technique et moral qu'il m'a toujours apporté.*

AU DOCTEUR E. MAISON,

bien cordialement.

A MES MAÎTRES DANS LES HÔPITAUX DE PARIS

Stage :

MONSIEUR LE PROFESSEUR HARTMANN

MONSIEUR LE PROFESSEUR ACHARD

Externat :

MONSIEUR LE PROFESSEUR ALGLAVE

MONSIEUR LE DOCTEUR VIARD

MONSIEUR LE DOCTEUR LÉON KINDBERG

MONSIEUR LE DOCTEUR TIXIER

MONSIEUR LE DOCTEUR GUILLEMOT

Stage d'obstétrique :

MONSIEUR LE PROFESSEUR VIGNES

A MES MAÎTRES DE L'INSTITUT PASTEUR

A LA MÉMOIRE DE MONSIEUR LE DOCTEUR CALMETTE

A MESSIEURS LES DOCTEURS DUMAS ET LEGROUX,

Chefs de Services à l'Institut Pasteur,

Directeurs du Cours et des Travaux pratiques.

A MESSIEURS LES DOCTEURS

DUJARIC DE LA RIVIÈRE, LEVY-BRUHL
ET LOISEAU,

Chefs de Service à l'Institut Pasteur.

*En témoignage d'amitié aux collaborateurs des laboratoires
de la Clinique médicale et de l'Hôtel-Dieu :*

A MADAME LE DOCTEUR COQUOIN,

A MONSIEUR LE DOCTEUR CACHERA,
Médecin des Hôpitaux,

A MESSIEURS COQUOIN, DEVAL, DOGNON,
FAGUET, GIRARD, GUERIN, MAY.

A TOUS LES MÉDECINS, ASSISTANTS ET COLLABORATEURS
DE LA CLINIQUE MÉDICALE DE L'HOTEL-DIEU

POUVOIR BACTÉRICIDE DU SANG ET HÉMOCULTURE

(ACTION DU CITRATE DE SOUDE, DE L'OXALATE DE SOUDE,
DU POLYANÉTHOL SULFONATE DE SOUDE)

GÉNÉRALITÉS

Le pouvoir bactéricide du sang

Les premières observations sur le pouvoir bactéricide du sang sont attribuées à Nuttall et à Buchner. Ce dernier auteur, en 1889, montre l'inactivation par un chauffage à 56°, propose le nom d'alexine, mot que conserva Bordet après avoir enrichi ce domaine par sa remarquable découverte des sensibilisatrices spécifiques et thermostables.

Petterson appelle α -lysines ce complexe alexine-sensibilisatrice et l'oppose aux β -lysines, principes bactéricides thermostables (mais non spécifiques, contrairement aux sensibilisatrices de Bordet). Ces β -lysines, longuement étudiées par Petterson (54), avaient été entrevues par quelques auteurs, notamment par Behring en 1889.

Nous avons essayé de résumer dans le tableau suivant les principales propriétés relatives au pouvoir bactéricide du sang. Leur nature physico-chimique est encore inconnue.

Les bactéries présentent une très inégale sensibilité au pouvoir bactéricide du sang. Les bactéries des groupes colityphiques, par exemple, sont très vulnérables; les staphylocoques et streptocoques le sont beaucoup moins, certaines souches de streptocoques hymolytiques se développent avec la plus grande facilité dans le sang ou le sérum pur. A ce dernier groupe de germes, pullulant assez facilement dans

	α — lysines de Petterson Complexe alexine-sensibilisatrice		β — lysines de Petterson
Résistance à la chaleur	Alexine	Sensibilisatrice	
	thermolabile détruit à 55°	thermostable (65 à 70°)	thermostable (60 à 70°)
Présence de NaCl	nécessaire pour l'activité		non nécessaire
Action de l'éther	destruction		absence de destruction
Spécificité	nulle	spécifique	nulle
Variations au cours de l'immunité acquise	nulle	augmentation considérable	nulle
Bactéries sensibles	bactéries ne prenant pas le Gram (1)		bactéries prenant le Gram
(1) Mackie et Finkelstein (46) opposent ainsi nettement ces deux groupes de bactéries, conception qui correspond aux données de Petterson, tout au moins dans ses grandes lignes.			

le sang, Wright avait donné le nom de sérophytes; le premier groupe étant qualifié de non-sérophyte. Dans l'ensemble les germes sérophytes prennent le Gram et sont sensibles aux β -lysines, tandis que les non-sérophytes ne prennent pas le Gram et sont sensibles aux α -lysines — c'est tout au moins l'opinion formelle de Mackie et de ses collaborateurs (46); dans l'ensemble, les données de Petterson sont conformes à cette classification.

Le pouvoir bactéricide du sang au cours des septicémies

Le pouvoir bactéricide du sang peut être modifié et même supprimé chez les malades atteints de septicémie. Cependant cette suppression totale est exceptionnelle, et il est rarissime que les bactéries puissent pulluler dans le sang circulant, même pour les bactéries qui s'y développent *in vitro* assez facilement comme le streptocoque hémolytique (bactéries sérophytes de Wright). Le pouvoir d'arrêt du foie, de la rate, des poumons et en général du système réticulo-endothélial s'ajoute au pouvoir bactéricide du sang pour débarrasser la circulation des bactéries vivantes. En fait, dans la plupart des états septicémiques, ces bactéries restent en nombre infime dans le sang: quelques unités par centimètre cube, comme l'ont montré des numérations indirectes par ensemencement en milieu solide. On doit admettre que ces bactéries ne se multiplient pas dans le sang, mais qu'elles proviennent de foyers infectés qui les déversent régulièrement dans la circulation. Gastinel et Reilly (25) ont fait un magistral exposé de ce mécanisme et précisé la notion de septicémie au XIX^e Congrès français de Médecine.

Cependant, la pullulation des bactéries peut se voir à la période terminale de certaines septicémies mortelles et même permettre leur observation par simple examen direct du sang, ce qui exige un nombre considérable de bactéries, de l'ordre

de plusieurs millions par centimètre cube. C'est même ainsi, par le simple examen direct du sang d'une agonisante, que Coze et Felz découvrirent le streptocoque en 1864. C'est aussi dans le sang de moutons morts du charbon que Davaine, dès 1850, avant les travaux de Pasteur, observa la bactérie charbonneuse, sans en soupçonner alors ni la nature ni le rôle. Chez l'homme, il n'y a guère que la peste pour permettre de façon assez régulière l'observation du bacille de Yersin dans le sang des agonisants. Nous répétons que ces faits demeurent l'exception, même pour les germes sérophytes de Wright.

A plus forte raison pour les germes « non sérophytes » tels que le bacille d'Eberth: au cours de la fièvre typhoïde, le pouvoir bactéricide reste très élevé et les germes très rares dans le sang.

Fiessinger et Cattani (22) trouvent ce pouvoir bactéricide du plasma si actif au cours de la fièvre typhoïde, que les bacilles typhiques ne pourraient pas, à leur avis, y rester vivants s'ils n'étaient protégés par les leucocytes qui les ont phagocytés. Cette conception est à l'origine d'un procédé original d'hémoculture, la « micro-leucocyto-culture », que nous mentionnerons plus loin.

Les inconvénients du pouvoir bactéricide pour les hémocultures et les moyens d'y remédier

Nous venons de voir que, sauf cas exceptionnels, le pouvoir bactéricide du sang persiste au cours des septicémies; il est donc susceptible de gêner les hémocultures. La réalité de cet inconvénient est encore très discutée. Récemment, aux Etats-Unis, Dulaney et Guthrie (19), à la suite de Shaw (67) défibrinent simplement le sang et obtiennent des résultats positifs (identiques à ceux du témoin dilué en bouillon). Ils rapportent trente-cinq septicémies, notamment treize à bacille d'E-

berth et quatorze à pneumocoques. Ces auteurs ne croient pas à l'action du pouvoir bactéricide du sang. Leurs constatations ne sont pas nouvelles: déjà, en 1903, Lemierre (41) présentait à la Société de Biologie neuf hémocultures par simple défibrination du sang suivant un procédé rigoureusement identique. Cet auteur, sur huit typhoïdes rapportait sept cultures positives, résultat qui l'avait étonné car la notion du pouvoir bactéricide du sang était déjà bien connue. *Cependant, Lemierre signale la lenteur des cultures* et rejette pour cela le procédé. Cette lenteur est à notre avis le signe manifeste de l'action inhibitrice du sang. Nous croyons même à une action bactéricide réelle, comme nos propres expériences nous ont permis de le vérifier.

Pour comprendre les résultats positifs de Lemierre et des auteurs américains, nous nous représentons quelques bactéries ayant échappé à l'action du sérum, soit à l'intérieur des leucocytes, comme le pensent Fiessinger et Cattani (22), soit dans un bloc de fibrine, et pullulant secondairement quand le pouvoir bactéricide du sang s'est atténué. On sait en effet que le pouvoir alexique baisse très rapidement après vingt-quatre heures.

La majorité des auteurs attachent une grande importance au pouvoir bactéricide du sang dans les hémocultures, et une multitude de procédés ont été proposés pour y obvier. Nous les classerons en quatre groupes :

- a) procédés par dilution;
- b) procédés par séparation des bactéries du sang;
- c) procédés par addition de produits chimiques;
- d) procédés particuliers (milieux solides).

A — PROCÉDÉS DE DILUTION

Shottmuller diluait le sang et le coulait dans la gélose nutritive. Presque aussitôt, de nombreux auteurs montrèrent *l'utilité de diluer fortement* le sang en milieu liquide. Citons Castellani, Bousquet et Courmont en France, ainsi que Widal, Sacquépée et Perquis (62), et, enfin, le remar-

quable travail de Lemierre (42) qui, en 1904, présente dans sa thèse un exposé d'ensemble de la question et rapporte de nombreux cas personnels. Cet auteur recommande d'ensemencer une grande quantité de sang et de le diluer fortement : 5 cc. de sang pour 500 cc. d'eau peptonée.

A. Grimberg et ses collaborateurs (29) ont fait récemment une étude expérimentale sur la nécessité de cette dilution pour les germes des groupes coli-typhiques. Ils ont constaté notamment que cette dilution doit être d'autant plus forte que les anticorps spécifiques sont plus abondants dans le sang. C'est ainsi qu'une grande dilution serait peu nécessaire tout au début de la fièvre typhoïde, et au contraire absolument indispensable vers le quinzième jour (agglutinines très développées).

B — SÉPARATION DES BACTÉRIES DU SANG

D'autres auteurs ont cherché à séparer les bactéries du sang avant de les ensemer. Les uns hémolysent, centrifugent et recueillent le culot de centrifugation; c'est encore la base du procédé d'hémoculture de Lœwenstein pour le bacille tuberculeux. Fiessinger et Cattani (23) situent, comme nous l'avons vu p. 16, les microbes dans les leucocytes; ceux-ci sont récoltés, après avoir centrifugé le sang citraté, en aspirant à la pipette le tapis leucocytaire qui se trouve à la limite de séparation des hématies et du plasma. On enseme ces leucocytes sur milieu approprié: c'est la « micro-leucocytoculture ». Patocka (53) élimine également le plasma par centrifugation, de même Alivisatos (1).

C — MODIFICATIONS DU SANG PAR ADDITION DE PRODUITS CHIMIQUES

Ce procédé poussé à sa perfection transformerait le sang directement en un bon milieu de culture et permettrait de se passer de dilution; l'objet de notre travail est précisément d'étudier cette transformation, notamment par le citrate de

soude et le polyanéthol sulfonate de soude à dose convenable.

Souvent, modification chimique et dilution ont été associées, et nous ferons ici une énumération de ces procédés et de leur principe.

Bile. — La bile, proposée par Conradi en 1904, est un acheminement vers la suppression de la dilution, car cette dilution peut être très faible: $1/2$ ou $1/3$; on peut d'ailleurs la supprimer en utilisant la bile sèche, méthode proposée par Lebœuf et Braun (40) en 1916. Un gramme de bile sèche correspondant à 10 cc. de bile reçoit 5 à 10 cc. de sang. Le mérite de cette méthode revient donc à Lebœuf et à Braun, qui l'avaient proposée en 1916.

En 1927, Pfanenstiel (55 et 56) montre également qu'on peut éviter la dilution et remplacer la bile par les sels biliaires. Pfanenstiel a fait une étude expérimentale très approfondie de la question. Il montre que la bile agit en supprimant le pouvoir alexique (évalué sur un système hémolytique). Il précise qu'elle est active à partir de la dilution $1/10$ (1 cc. de bile pour 9 cc. de sang). Il montre que les sels biliaires sont essentiellement responsables de cette action et agissent à la dilution de 1 pour 100 dans le sang.

Grimbert, Mutermilch, Ajasse-Lafont et Mlle Pellier (30) ont également constaté, en 1937, ce pouvoir anti-alexique de la bile et noté son début d'action à la dilution de $1/10$ dans le sang; ils montrent qu'à cette dilution de $1/10$ la bile n'entrave pas la multiplication des streptocoques.

Employée normalement, c'est-à-dire au moins une partie de bile pour une partie de sang, la bile ne convient que pour les germes des groupes coli-typhiques; mais elle est ici d'une telle simplicité et d'une telle supériorité que plusieurs auteurs l'utilisent toujours, tout en conseillant, comme Bonnet et Névot (9), de lui adjoindre d'autres milieux pour les autres bactéries éventuelles.

Savon Saponine. — Sacquepée en 1916 (63) signale les bons résultats des milieux savoneux qu'il utilise depuis 1910.

Ces milieux sont à son avis préférables à la bile, car ils permettent non seulement la multiplication des bactéries typhiques mais d'autres germes.

Le milieu de Sacquepée est ainsi préparé :

Savon <i>médicinal</i>	1	gramme
Peptone	1,5	—
NaCl	0,5	—
Eau	100	—

On répartit pour l'hémoculture à raison de 15 cc. par tube.

Sgalitzer (66), qui ne paraît pas avoir eu connaissance de la note de Sacquepée (d'ailleurs difficile à trouver), fait en 1935 une étude comparative sur les milieux saponinés :

Peptone à 1 p. 100 <i>pH</i> 7,2 . .	1	litre
Saponine Merck	10	grammes

On fait bouillir une demi-heure, on filtre, on stérilise à l'autoclave. Sgalitzer ensemence 4 cc. de sang dans 40 cc. de milieu saponiné. L'auteur a essayé ce milieu pour 35 endocardites d'Osler, le streptocoque viridans étant réputé comme fragile. Il a obtenu de très bons résultats comparables à ceux fournis par la méthode de Massa et Battistini au liquoïde que nous étudions plus loin, page 54.

Acidification momentanée. — En 1929, Boez et Robin (7 et 8), après avoir observé qu'une acidification momentanée à *pH* 5 détruit de façon irréversible le pouvoir bactéricide du sang, proposent de recevoir le sang sur citrate acide puis de l'ensemencer le plus tôt possible en le diluant à un pour dix environ en milieu gélosé (légèrement alcalin pour ramener le *pH* à 7,2) et en utilisant le procédé aéro-anaérobie de Boez précédemment décrit par cet auteur (6).

Wright (70) avait déjà signalé la disparition du pouvoir bactéricide du sang par acidification, et Hall (33), d'autre part, avait déjà utilisé les acides dilués pour les hémocultures.

Hyperchloruration momentanée. — En 1931, Boez et Marneffe (8 bis) constatent qu'une hyperchloruration momen-

tanée à 25 ou 30 pour mille détruit également le pouvoir bactéricide du sang de façon irréversible. Ce procédé est appliqué aux hémocultures et peut remplacer le citrate acide avant la dilution à un pour dix en milieu gélosé. Ces auteurs signalent que le même résultat pourrait être obtenu avec d'autres électrolytes à dose convenable.

Novirudine. — En 1929, Lusena (45) proposa la novirudine (solution de novirudine 1 p. 100, 1 cc.; sang, 7 cc.). Lusena trouve la novirudine supérieure à l'héparine et au néosalvarsan qu'il a également étudiés. Massa et Battistini en proposant le liquoïde déconseillent la novirudine, peu efficace à leur avis et d'une réaction acide gênante. Pour ces derniers auteurs, la novirudine ne détruirait que un tiers du complément.

Sérum anti-humain. — En 1930, Ranque et Senez (57) proposent de supprimer le pouvoir bactéricide du sang en fixant son alexine par la sensibilisatrice d'un sérum anti-hématies-humaines.

Peptone de Witte. — Hadjopoulos, Burbank et Reginald (31) proposent en 1930 la peptone de Witte après avoir constaté son pouvoir anti-alexique au cours de nombreux essais SUR DES SUBSTANCES DIVERSES.

C'est au taux de 1/20 et 1/10 que la peptone donne son action la plus favorable. Elle est très acide; les auteurs ont vérifié que son pouvoir anti-alexique n'est pas lié à l'acidité. Pour l'hémoculture, on recueille 2 cc. de sang dans 10 cc. de peptone à 10 p. 100. Pour les streptocoques on neutralise au moment de l'emploi par 1 cc. de solution à 1 p. 100 de bicarbonate densoude.

Néosalvarsan. — Nous avons vu que Lusena (45) n'a pas trouvé ce produit favorable. Hadjopoulos (31) trouve une action anticomplémentaire à 1 p. 100, mais à cette dose il inhibe la croissance des bactéries.

Chlorure de calcium. — Hadjopoulos (31) et ses collaborateurs trouvent un pouvoir anti-alexique à la dose de

1 p. 100. Ce produit n'a pas donné de bons résultats aux auteurs dans la fièvre typhoïde.

Liquoïde ou *Polyanéthol sulfonate de soude*. — 1933, Antoni et Cartalani; 1934, Massa et Battistini. Ce corps a été donné comme transformant le sang en un bon milieu de culture sans dilution; nous en faisons une étude spéciale page 54.

Citrate de soude à forte dose. — 1935, Carnot et Lavergne (12). Ce corps a été utilisé depuis très longtemps; nous lui consacrons un historique et une étude spéciale page 29.

Oxalate de soude — 1936, Dimitrijevic, Speth et Arsenijevic (17). Ces auteurs proposent l'oxalate simplement pour le transport au laboratoire; nous lui avons consacré un chapitre spécial page 50.

Produits inefficaces. — Hadjopoulos (31) et ses collaborateurs, en dehors de la peptone, du chlorure de calcium, du néosalvarsan, dont nous venons de parler, ont étudié les corps suivants, qu'ils ont trouvé inefficaces :

chlorure de sodium
chlorure de potassium
chlorure d'ammonium
oxalate de potassium

alcool
glycérine
glucose
dextrine
gum-acacia

quinine
acetanilio
phenacétine
hg oxycyanide
chloroforme

levure
pancréatine
thyroxine
histamine
insuline

bouillon nutritif
gélose nutritive

Ils ont commencé par une dose de 1 pour 100 et essayé diverses doses. Dans le cours de ce travail, nous montrerons que la dose a une importance capitale. Il est possible que ces corps agissent à des doses non étudiées par ces auteurs. C'est ainsi que nous avons trouvé l'oxalate de soude actif à 15 pour 1000 et inactif à 1 pour 1000. Le citrate de soude supprime le pouvoir bactéricide à 20 pour 1000 et non à 5 pour 1000.

Pfannenstiël a trouvé l'urée inefficace à 5 pour 100 et la cholestérine très peu efficace à 5 pour 1000.

Koschate (36) qui a retenu le citrate de soude, rejette l'hydroxyde de magnésium colloïdal, l'héparine et l'oxalate de K.

D — PROCÉDÉS PARTICULIERS POUR OBVIER AU POUVOIR BACTÉRICIDE DU SANG

Suppression de NaCl. — L'alexine étant inactivé par la suppression de NaCl, on peut diluer fortement dans un milieu de culture exempt d'électrolytes, un tel milieu restant favorable à la multiplication microbienne. Nous ne croyons pas que ce procédé ait donné lieu à une expérimentation suivie.

Gélose et gélatine. — Les milieux solides à dilution égale sont souvent plus favorables que les milieux liquides. Outre une action directe, la gélose et la gélatine peuvent avoir une action favorisante indirecte en supprimant presque totalement toute diffusion dans le milieu de culture, et spécialement autour des bactéries.

TECHNIQUES UTILISÉES DANS CE TRAVAIL

Une quantité déterminée de germes est mélangée au sang. Des numérations successives montrent s'il y a diminution et bactéricidie ou au contraire pullulation.

Nous avons expérimenté le plus souvent sur le sang total humain, tantôt sur le sang de sujets sains, tantôt avec le sang de malades atteints de septicémies réalisant un ensemencement *in vivo*.

I

SANG DE SUJETS SAINS ENSEMENTÉ IN VITRO

Addition de la substance chimique étudiée. — Nous avons parfois opéré sur le sang défibriné, mais le plus souvent sur le sang directement additionné de la substance étudiée anticoagulante.

Dans ce cas, nous utilisons des tubes à essai jaugés à 5 ou à 10 cc. et contenant sous un petit volume la solution à étudier. Par exemple tube jaugé à 10 cc. contenant 1 cc. de solution de citrate de soude à 10 pour 100: on verse le sang jusqu'au trait de jauge, et l'on obtient après mélange une citration à 10 pour mille.

Ensemencement. — A partir du tube précédent, on prépare plusieurs tubes secondaires en répartissant à la pipette graduée stérile 2 cc. par tube (parfois 1 cc.). Ceci permet, avec une seule prise de sang, d'étudier plusieurs souches microbiennes et d'autre part de se débarrasser des bulles d'air et de la mousse du premier tube mélangeur.

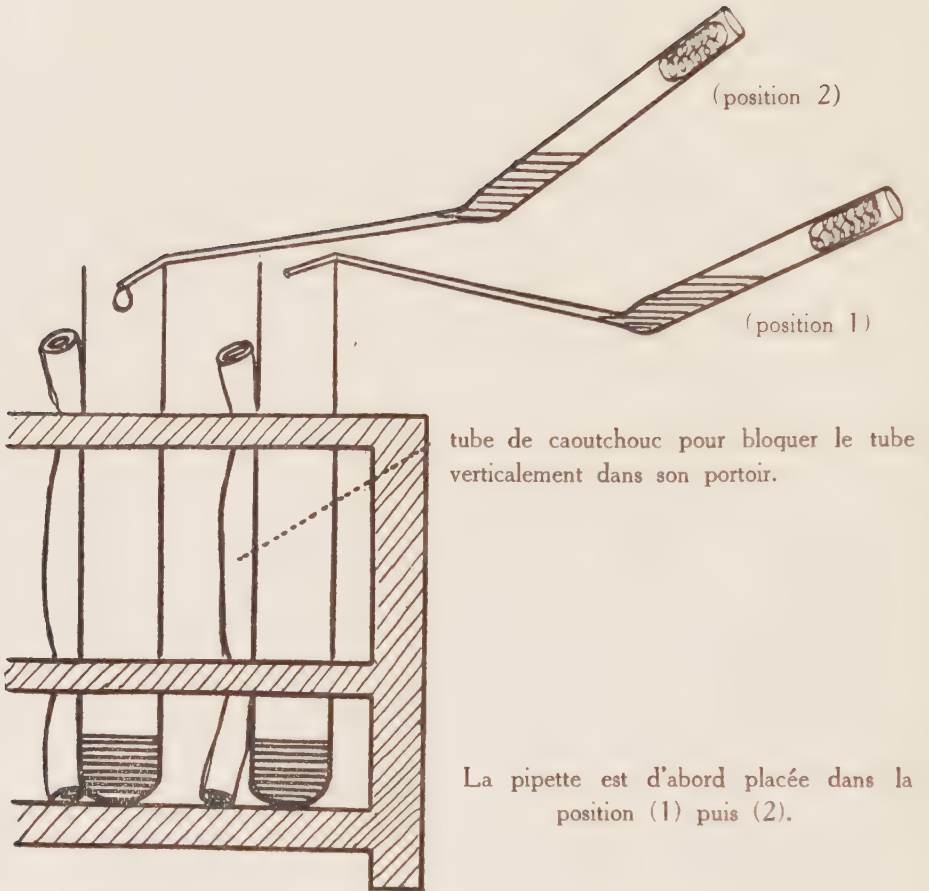
L'ensemencement se fait en laissant tomber une petite goutte (1/40 cc.) d'émulsion microbienne dans chaque tube. Cette goutte doit tomber directement dans le sang pour ne pas laisser une partie des microbes sur les parois du tube.

On peut ensemençer rapidement sans le secours d'un aide toute une série de tubes avec une même émulsion microbienne en opérant ainsi: les tubes à essai sont immobilisés sur le portoir au moyen d'un petit tube de caoutchouc (voir figure ci-après). Ainsi on peut d'une seule main enlever et replacer le bouchon de coton (main gauche); l'autre main manie la pipette représentée sur la figure, pipette avec laquelle il est facile, par simple mouvement de bascule, de laisser tomber une seule goutte au centre du tube.

L'émulsion microbienne est faite à partir d'une culture homogène en bouillon âgée de vingt-quatre heures. Si l'on veut par exemple ensemençer 5.000 bacilles d'Eberth par cc. de sang, on verse un dixième de cc. de la culture dans 200 cc. de sérum physiologique; chaque goutelette (1/40 cc.) pour l'ensemencement contiendra 5.000 germes si la culture de bacilles d'Eberth de vingt-quatre heures contient 400 millions de germes par cc. (la méthode de numération en boîte de gélose donne des chiffres de cet ordre). On fait varier le nombre de germes ensemençés en faisant varier le taux de la dilution.

Après l'ensemencement, on agite modérément pour assurer le mélange sans provoquer de bulles, on capuchonne soigneusement pour éviter l'évaporation, et l'on porte à l'étuve à 37°.

Numération des bactéries. — Nous employons la méthode classique des boîtes de gélose avec liquéfaction et incorporation homogène des germes avant solidification. Pour les détails, l'étude critique et la démonstration de la valeur de la méthode, nous renvoyons au remarquable exposé de J. Régnier et S. Lambin (59). Ces auteurs indiquent les précautions à prendre pour obtenir le meilleur rendement de la méthode, qui à leur avis donne une erreur moyenne de 7,8 pour 100.



DISPOSITIF POUR ENSEMENTER LE SANG SANS AIDE

Ces auteurs estiment qu'il faut compter la totalité des colonies sur une boîte et que leur nombre ne doit pas dépasser quatre cents (boîte de 10 cm. de diamètre). Pour notre travail, nous avons compté un nombre beaucoup plus élevé et nous avons rapporté ces numérations au centimètre carré. Pour cela nous avons projeté optiquement la boîte de Pétri sur un écran en utilisant un agrandisseur photographique (appareil Noxa pour 9×12 , agrandissant linéairement cinq fois). Ce procédé a l'avantage d'une part d'agrandir les colonies et leur espacement, et d'autre part d'obtenir l'image de toutes les colonies sensiblement au point malgré une épaisseur de gélose de 0,5 cm. environ. Nous comptons les colonies en les pointant, ce qui évite toute erreur de lecture. Cette technique donne une très grande latitude: on peut évaluer de 5 à 10.000 colonies par boîte. Ce qui est d'un gros intérêt quand on a de nombreuses numérations et qu'il est malaisé de faire plusieurs dilutions et plusieurs boîtes pour une même numération.

II

SANG RECUEILLI AU COURS DE SEPTICÉMIES

L'ensemencement est ici réalisé d'avance *in vivo*. La ponction veineuse se fait comme une hémoculture simple. On récolte 20 ou 30 cc. de sang. On répartit dans plusieurs tubes contenant les substances anticoagulantes étudiées. Ces tubes sont jaugés d'avance, en général à 5 cc. Par exemple 0,5 cc. de citrate de soude à 20 pour 100 et l'addition de sang jusqu'à 5 cc. donne une citration du sang à 20 pour 1000; d'autres tubes contiennent d'autres doses ou d'autres substances, et l'on fait en général un témoin de sang dilué en bouillon ou en gélose Veillon anaérobie.

Les germes sont numérés régulièrement comme dans le procédé précédent: en général immédiatement après la récolte, puis après 6 heures, 24 heures et 48 heures. Ici,

comme on dispose de 5 cc. de sang dans chaque tube, on ensemence en général $1/2$ ou 1 cc. de sang en gélose pour chaque numération.

Quand les germes ont abondamment pullulé et sont facilement visibles sur frottis par simple examen direct, nous ne faisons pas de numérations et notons ∞ . Si nous avons besoin d'établir une comparaison entre deux cultures ayant donné une telle pullulation, nous comparons seulement approximativement l'abondance des bactéries par champ microbien.

LE CITRATE DE SOUDE

HISTORIQUE

L'action du citrate de soude sur le pouvoir bactéricide du sang a été très diversement appréciée; les uns l'estimant nulle, les autres lui attribuant une action destructrice ou au contraire une action favorisante.

Cependant, l'usage de ce sel est très répandu pour les bouillons destinés aux hémocultures. Il est conseillé aux travaux pratiques de la Faculté de Médecine et de la Faculté de Pharmacie, ainsi qu'au cours de l'Institut Pasteur, à des doses variant de 4 à 7 pour mille. On conseille ce sel pour éviter la coagulation et non pour détruire le pouvoir bactéricide du sang.

A ce seul point de vue (comme anticoagulant) le citrate de soude peut avoir son utilité; M. Deval, chef des travaux de bactériologie de la Faculté de Pharmacie, a bien voulu nous dire qu'il avait fait, chez un typhique, une hémoculture comparative en bouillon citraté à 4 pour 1000 et dans le même bouillon non citraté. Une numération des bacilles d'Eberth, pratiquée par la méthode indirecte en gélose, peu de temps après l'ensemencement, lui montra une multiplication plus rapide en bouillon *citraté*.

Cependant, nous signalons qu'une coagulation partielle du mélange sang et bouillon peut avoir son utilité en d'autres circonstances. Reichel (60) recherche cette coagulation partielle et la formation d'un voile fibrineux, notamment pour la culture des streptocoques viridans; il se forme alors des colonies isolées, suspendues dans ce milieu semi-liquide. Cette méthode a donné à l'auteur des résultats remarquables dans l'endocardite d'Osler. Sans avoir connu le travail de Reichel,

ni suivi exactement sa technique, nous avons obtenu plusieurs fois de belles colonies isolées (staphylocoques ou streptocoques) dans le caillot semi-liquide qui se forme, au-dessus des hématies sédimentaires, après mélange de sang et de bouillon.

Pour en revenir au rôle anticoagulant du citrate de soude, Lebœuf, Bonnafous et Braun (38) l'ont conseillé en 1915 suivant la formule suivante :

Sang	2 cc.
Bouillon peptoné	10 cc.
Solution de citrate à 10 pour 100 . .	0,5 cc.

Ces auteurs estiment que le pouvoir bactéricide a peu d'importance et, utilisant le citrate de soude pour éviter la coagulations, ils limitent la dilution du sang à 1/6.

Ils font 26 hémocultures comparatives chez les typhiques et obtiennent 18 résultats positifs avec ce procédé et seulement 16 succès sur bile. En 1916 (39) ils suppriment même cette dilution à 1/6, la ramènent à 2/3, suivant la formule suivante, réalisant une citration à 16 pour 1000 :

Eau citratée à 5 pour 100	1 cc.
Sang.	2 cc.

Ils font 110 essais comparatifs et obtiennent 42 succès en bile (bile, 10 cc.; sang, 2 cc.) et 41 succès en eau citratée. Les auteurs signalent toutefois une avance des plus nettes de la multiplication en bile dans tous les cas (retard de 24 h. pour le procédé au citrate).

Dumont (20), qui était resté fidèle aux fortes dilutions du sang, trouvait le citrate inutile et même nuisible.

Lisbonne (44), de Montpellier (Centre de recherche sur la fièvre ondulante), utilise avec le plus grand succès la citration du sang à 10 pour 1000 environ, pour le transport en vécules du sang non dilué en vue des hémocultures dans les brucelloses.

Mais tous ces auteurs ne s'intéressent qu'au pouvoir anticoagulant du citrate de soude. Voyons ceux qui ont étudié son action sur le pouvoir bactéricide.

En 1930, Koschate (36) attache une grosse importance

au pouvoir bactéricide du sang; il étudie plusieurs substances susceptibles de l'atténuer et ne retient que le citrate de soude. Il conserve une notable dilution du sang et conseille une citration du mélange à 4 pour 1000.

D'autres auteurs au contraire trouvent que le citrate de soude n'a pas d'action destructrice sur le pouvoir bactéricide du sang, par exemple Irwin (34), sur *Brucella abortus* et *Brucella suis*.

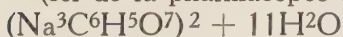
En juillet 1936, nous avons montré avec notre maître, M. le professeur Carnot (12 et 13), que la dose a une importance capitale. A la dose de 4 ou 5 pour 1000 (déjà anticoagulante) le citrate de soude ne modifie pas sensiblement le pouvoir bactéricide; au contraire, à la dose de 15 ou 20 pour 1000, le pouvoir bactéricide du sang est supprimé au point de rendre le sang total propice à la pullulation des bactéries des groupes Eberth coli, sans dilution du sang.

Dans notre premier travail avec M. Carnot, nous avons noté que l'action antibactéricide du citrate de soude augmente progressivement avec la dose, cette action, déjà notable à 10 pour 1000, était considérable à 15 et 20 pour 1000. Grimberg, Multermich et Agasse-Lafont (29), reprenant ces expériences, ont confirmé l'action des fortes doses mais s'inscrivent en faux contre nos conclusions quant à la dose elle-même. Ces auteurs trouvent qu'à 20 pour 1000 le citrate de soude n'a pas d'action et indiquent la dose de 30 pour 1000 pour supprimer le pouvoir bactéricide du sang.

Pour vérifier nos résultats à ce sujet, nous avons utilisé un citrate de soude trisodique bien défini au point de vue de sa teneur en eau. On sait, en effet, que ce sel existe sous plusieurs états très différents à ce point de vue; on connaît notamment :



(sel de la pharmacopée américaine)



(sel courant, sel du nouveau Codex français)

C'est ce dernier, le sel courant, que nous avons utilisé. Pour nos vérifications, nous l'avons pris parmi les produits les plus purifiés : soit Merck, soit Rhone-Poulenc (R.P.).

DÉTAILS DES EXPÉRIENCES

La technique utilisée est la technique générale précédemment décrite page 24.

Nous reproduisons d'abord les expériences que nous avons données dans notre note avec M. Carnot :

Nombre de germes par cc.	COLIBACILLE			
	défibriné	défibriné citraté à 10 p. 1000	citraté à 10 p. 1000	citraté à 20 p. 1000
Ensemencés.	20.000	20.000	20.000	20.000
Après :				
4 h. 30 . .	0	51.200 plus de	70.000 plus de	45.000 plus de
24 heures.	0	100.000.000	100.000.000	100.000.000

Nombre de germes par cc.	BACILLE D'EBERTH	
	Sang défibriné	Sang citraté 10 p. 1000
Ensemencés.	10.800	10.800
Après :		
1 h. 30 . .	0	19.000
7 h. 30 . .	0	300.000 plus de
24 heures.	0	100.000.000

Nombre de germes par cc.	PARA B	
	Défibriné	Citraté 10 p. 1000
Ensemencés.	19.200	19.200
Après :		
2 heures.	2.200	12.800
9 heures.	0	1.200.000
24 heures.	0	5 milliards

Nombre de germes par cc.	COLIBACILLE		
	Sang défibriné pH 6,8	Sang citaté 5 p. 1000 pH 7,20	Sang citaté 15 p. 1000 pH 7,3
Ensemencés.	27.000.000	27.000.000	27.000.000
Après :			
25 min ^{tes} .	2.144.000	34.000	70.000
1 h. 30 ..	126.720	1.320	92.000
5 heures.	6.060	20	688.000
9 heures.	500	20	3.808.000
30 heures.	5.240	45	plus de 20.000.000

Voici maintenant des vérifications inédites.

Nous donnerons d'une part quelques expériences où le sang a étéensemencé au laboratoire et quelques autres au cours de septicémies. Le signe ∞ est employé quand les germes sont nombreux au point d'être visibles à l'examen direct (plusieurs par champ microscopique).

1° Germes ensemencés au laboratoire

(Expérience du 24 septembre 1938)

Nombre de germes par cc.	BACILLE PARA B	
	Sang citaté 5 p. 1000	Sang citaté 20 p. 1000
	citrate 10 p. 00 0,25 cc. sang Q. S. pour 5 cc.	citrate 20 p. 100 0,5 cc. sang Q. S. pour 5 cc.
Ensemencés . .	700	700
Après 6 h. . .	0	20.000
Après 24 h. . .	0	∞

Nombre de germes par cc.	BACILLE PARATYPHIQUE B	
	Sang citaté 5 p. 1000	Sang citaté 20 p. 1000
	citrate 10 p.100 0,25 cc. sang Q. S. pour 5 cc.	citrate 20 p. 100 0,5 cc. sang Q. S. pour 5 cc.
Ensemencés . .	5.000	5.000
Après 7 heures à 37°	1	13.000
Après 48 heures à 37°	0	∞
Nombre de germes par cc.	BACILLE D'EBERTH	
	Sang citaté 5 p. 1000	Sang citaté 20 p. 1000
	citrate 10 p.100 0,25 cc. sang Q. S. pour 5 cc.	citrate 20 p. 100 0,5 cc. sang Q. S. pour 5 cc.
Ensemencés . .	6.000	6.000
Après 7 heures à 37°	0	20.000
Après 48 heures à 37°	0	∞
Nombre de germes par cc.	BACILLE D'EBERTH	
	Sang citaté 5 p. 1000	Sang citaté 20 p. 1000
Ensemencés . .	0	5.000 environ
Après 48 h. . .	0	∞
Après 6 jours .	0	∞
Nombre de germes par cc.	BACILLE PARATYPHIQUE B	
	Sang citaté 5 p. 1000	Sang citaté 20 p. 1000
Ensemencés . .	5.000 environ	5.000 environ
Après 4 h. 30.	0	∞
Après 48 h. . .	0	∞
Après 6 jours .	0	∞

Bacilles par cc.	Sang citraté			Sang liquoïdé	Bile	Oxalate de Soude
	0,5 p. 100	2 p. 100	3 p. 100			
	Citrate: 10 p. 100: 0,25 Sang: QS p. 5 cc.	20 p. 100: 0,5 Sang: QS p. 5 cc.	30 p. 100: 0,5 Sang: QS p. 5 cc.	Liquoïde: 1 p. 100: 1 cc. Sang: 5 cc.	Bile: 4 cc. Sang: 2 cc.	Oxalate: 3 p. 100: 2 cc. Sang: QS p. 6 cc.
BACILLE D'EBERTH						
Ensemencés . .	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000
Après 4 h. 30.	0	5.000	7.000	18.000	5.000	5.000
Après 24 h. . .	0	∞	∞	∞	∞	∞
BACILLE PARATYPHIQUE B						
Ensemencés . .	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000
Après 4 h. 30.	0	88.000	27.000	25.000	50.000	12.000
Après 24 h. . .	0	∞	∞	∞	∞	200.000

2° *Expérience réalisée au cours d'une fièvre typhoïde
à bacille d'Eberth*

30 cc. de sang ont été recueillis par ponction veineuse et répartis de six façons différentes, comme il est indiqué dans le tableau ci-contre. On voit que la multiplication des germes ici comme dans nos autres expériences, a été sensiblement identique dans le sang citaté à 20 pour 1000 et dans le sang citaté à 30 pour 1000, tandis que les germes non seulement ne se sont pas multipliés mais n'ont pas pu être retrouvés après 66 heures dans le sang citaté à 5 pour 1000.

Sang citaté à des doses supérieures à 20 pour 1000

Nous avons vu que A. Grimberg et ses collaborateurs en reprenant nos expériences exigent non seulement un taux de citrate à 20 pour 1000 mais à 30 pour 1000. Si nos vérifications nous ont montré que ce taux n'était pas nécessaire, nous l'avons par contre trouvé sans inconvénient, et, pour nos applications aux hémocultures, nous avons appliqué indifféremment une citration de 20 à 40 pour 1000. Nous donnerons le détail de ces essais au chapitre consacré à l'application aux hémocultures.

CULTURE DES GERMES AUTRES QUE LES BACTÉRIES
DES GROUPES COLI-TYPHIQUES

Staphylocoques - Streptocoques - Pneumocoques

A. Grimberg et ses collaborateurs (29 et 30) ont signalé que les streptocoques et staphylocoques ne se multipliaient pas dans le sang fortement citaté suivant la technique que nous avons préconisée pour les bactéries des groupes coli-typhiques. Notre expérience de ce sujet nous amène aux mêmes conclusions, et nous avons obtenu des résultats identiques avec le pneumocoque; tandis que Agasse-Lafont et ses collaborateurs ont obtenu des résultats irréguliers avec ce germe.

Nous avons constaté que les fortes doses de citrate (20 à 40 pour 1000) inhibent la croissance de ces bactéries dans

Hémoculture au cours d'une fièvre typhoïde à bacille d'Eberth

Nombre de germes par cc. de sang ensemené	SANG NON DILUÉ				SANG DILUÉ	
	citraté 5 p. 1000	citraté 20 p. 1000	citraté 30 p. 1000	liquoidé 1 p. 600	en bile dilué 1 p. 3	en bouillon T dilué 1 p. 75
5 minutes après la récolte du sang	non fait	non fait	non fait	0	non fait	non fait
Après 5 heures d'étuve à 37°.	0	1	2	1	3.600	25
Après 15 h. à 37°	0	2.000	4.000	1.000	∞	∞
Après 40 h. .	0	∞	∞	∞		
Après 66 h. .	0					

Dans cette expérience, pour chaque numération, 1 cc. a été prélevé et coulé en gélose

le bouillon ordinaire tandis qu'elles n'entravent pas la multiplication des bactéries des groupes coli-typhiques.

Nous pensons, dans ces conditions, que le pouvoir bactéricide propre du sang n'est pas en cause dans l'arrêt du développement, mais que cet arrêt est dû au citrate de soude lui-même. Nous croyons cela d'autant plus que les staphylocoques et streptocoques hémolytiques (bactéries sérophytes de Wright) se développent beaucoup plus facilement dans le sang que les bacilles des groupes coli-typhiques (bactéries non-sérophytes de Wright).

L'exemple suivant prouve le bien-fondé de cette concep-

Nombre de Staphylocoques par cc.	SANG NON DILUÉ			SANG DILUÉ à 1 p. 100 env.
	citraté 5 p. 1000	citraté 30 p. 1000	liquoidé 2 p. 1000	Sang... 4 cc. Eau peptonée glucosée 400 cc.
Quelques minu- tes après l'hé- moculture . .			2.500	
Après 18 h. à 37°	∞	1.500	∞	∞
Après 36 h. à 38°	∞	2.500	∞	∞

tion. Il s'agit d'une hémoculture au cours d'une staphylococcémie; le staphylocoque s'est multiplié dans le sang non dilué citraté à 5 pour 1000 et non dans le sang citraté à 30 pour 1000.

Dans ce cas, on voit cependant que le staphylocoque, s'il ne s'est pas multiplié, a été conservé dans le sang citraté à 30 pour 1000. C'est toujours ce que nous avons constaté dans nos autres essais avec le staphylocoque.

Nous rapportons même un cas d'hémoculture où le staphylocoque n'a pas été détruit dans le sang citraté à 50 pour 1000 :

Nombre de staphylocoques par cc.	SANG DILUÉ à 1 p. 30 environ	SANG NON DILUÉ
	Sang. 5 cc. Eau pept. gluc. 150 cc.	Sang. 5 cc. Citrate 30 p. 100. . 1 cc.
Quinze minutes après la récolte du sang. .		88
Après 24 h. à 37°. .	∞	236
Après 48 h. à 37°. .	∞	122

D'autres espèces de cocci montrent au contraire une grande fragilité en sang fortement citraté, notamment le streptocoque viridans. En voici un exemple relatif à une hémoculture dans une endocardite d'Osler :

D'après une numération faite un quart d'heure après l'ensemencement, le sang contenait 20 germes environ par centimètre cube. Après 24 heures on n'en a retrouvé ni dans le sang citraté à 10 p.1000 ni dans le sang citraté à 30 p.1000.

Endocardite d'Osler Streptocoque viridans (3-2-27)

Numération des germes par cc.	SANG DILUÉ à 1 p. 100 environ	SANG NON DILUÉ		
	Eau peptonée gluco- sée . . . 400 cc. Sang. . . . 4 cc.	citraté 10 p. 100 4 cc.	citraté 30 p. 100 4 cc.	liquoïdé 2 p. 100 4 cc.
15 minutes après la récolte du sang .	non fait	18	25	18
Après 24 heures .	∞	0	0	∞

L'action nocive du citrate de soude à forte dose a été encore manifeste dans une hémoculture réalisée au cours d'une septicémie à pneumocoque chez un diabétique. Le germe, qui s'est développé dans le sang faiblement citraté à 5 pour 1000, n'a pu être retrouvé ni dans le sang citraté à 20 pour 1000, ni dans le sang citraté à 50 pour 1000.

Nombre de germes par cc.	SANG DILUÉ à 1 p. 100 B ^{lion} T 40 cc. Sang . . 4 cc.	SANG NON DILUÉ			
		CITRATÉ A			LIQUOIDÉ à 1 p. 600
		5 p. 1000	20 p. 1000	50 p. 1000	
Après 24 h. à 37° . .	∞	0	0	0	∞
Après 5 j ^{rs} à 37° . .	∞	++ (rars à l'examen direct)	0	0	∞

Hémoculture dans une septicémie à pneumocoques

Nous venons de voir que le sang humain citraté de 20 à 40 pour 100 a perdu son pouvoir bactéricide et qu'il est transformé en un bon milieu de culture pour les bactéries des groupes coli-typhiques-protéus. Mais le sang ainsi citraté est défavorable pour la multiplication d'autres germes : il est bactériostatique pour le staphylocoque, bactéricide pour le streptocoque viridans, et, d'une manière générale, peu favorable aux streptocoques et aux pneumocoques. Grimberg, Agasse-Lafont et Multermich l'ont également trouvé défavorable aux gonocoques et aux méningocoques.

Cependant, les germes des groupes coli-typhiques-protéus ne sont pas les seuls capables de pulluler dans le sang fortement citraté; nous avons obtenu des hémocultures positives, notamment dans une brucellose et dans une septicémie à *funduliformis*, comme nous le verrons dans un paragraphe suivant, consacré aux applications aux hémocultures.

Mécanisme de la disparition du pouvoir bactéricide du sang sous l'action de fortes doses de citrate de soude

Les propriétés du pouvoir bactéricide du sang étant mal définies au point de vue physico-chimique, il est difficile de connaître l'action du citrate de soude sur ce pouvoir bactéricide. On peut rechercher les propriétés du sang qui se modifient parallèlement et rassembler des faits qui permettront peut-être d'avancer dans la compréhension du phénomène.

Pour notre part, nous avons simplement recherché si la disparition du pouvoir bactéricide est liée à une modification du pH, et, d'autre part, si le phénomène est réversible, c'est-à-dire si l'on peut faire réapparaître le pouvoir bactéricide du sang par diminution du taux de citrate à la suite de dilution ou d'addition de calcium.

CONCENTRATION EN IONS H

Dans notre première note avec M. le professeur Carnot, nous avons mesuré le pH du sang citraté à 5 pour 1000 (bactéricide) et du sang citraté à 15 pour 1000 (non bactéricide) ; nous avons constaté que la variation du pH n'est pas importante et ne paraît pas liée ici au phénomène. Ce point est important, car plusieurs auteurs, Wright en parti-

Nombre de germes par cc.	COLIBACILLE (sang G. L., 3 juillet 1936)		
	Sang défibriné pH 6,8	Sang citraté 5 p. 1000 pH 7,20	Sang citraté 15 p. 1000 pH 7,3
Ensemencés . . .	27.000.000	27.000.000	27.000.000
Après 25 minutes.	2.144.000	34.000	70.000
— 1 h. 30. .	126.720	1.320	92.000
— 5 heures. .	6.060	20	688.000
— 9 heures. .	500	20	3.808.000
— 30 heures. .	5.240	45	plus de 20.000.000

culier, ainsi que Boez, etc., ont signalé la disparition du pouvoir bactéricide par acidification. (Voir ci-avant le détail de notre expérience.)

DIMINUTION DU TAUX DE CITRATE

1° par addition de calcium :

Nous avons opéré sur le sang total et nous avons été gênés par des coagulations imprévues. En effet, nous avons calculé la dose de CaCl_2 pour neutraliser les trois quarts seulement du citrate de soude; cependant le sang s'est coagulé. Aussi ces expériences sont très difficiles à interpréter et ne nous ont pas paru démonstratives.

2° par dilution au quart du sang citaté à 20 pour 1000 :

Ces expériences ont parfaitement réussi et nous ont montré que le pouvoir bactéricide du sang est seulement masqué et qu'il réapparaît si l'on ramène la dose de citrate de soude de 20 pour 1000 à 5 pour 1000.

Cela est manifeste dans le tableau suivant :

L'expérience est difficile à réaliser, car il faut que le témoin dilué au quart et directement citaté à 5 pour 1000 reste bactéricide. Pour cela, il faut ensemercer très peu de germes et d'autre part que ce germe soit très sensible au pouvoir bactéricide du sang. La même expérience réalisée avec du colibacille ne put pas être interprétée, car le colibacille pouvait se multiplier dans ce témoin simplement dilué au quart.

*
**

Pour terminer ce paragraphe sur le mécanisme de la destruction du pouvoir bactéricide du sang, nous faisons remarquer que pour le citrate de soude comme pour les deux autres anticoagulants étudiés dans ce travail, la dose antibactéricide est plusieurs fois supérieure à la dose antioagulante avec la régularité d'une loi.

Nombre de germes par cc. (bacille d'Eberth)	SANG NON DILUÉ		SANG DILUÉ au 1 p. 4		
	citraté à 5 p. 1000	citraté à 20 p. 1000	citraté pur à 20 p. 1000 puis dilué finalement citraté 5 p. 1000	citraté pur à 20 p. 1000 puis dilué en solution citraté 20 p. 1000 finalement citraté 20 p. 1000	citraté pur à 5 p. 1000 puis dilué en solution citraté 5 p. 1000 finalement citraté 5 p. 1000
Ensemencés	800	800	800	800	800
Après 5 h. 30. . .	0	750	25	2.300	25
Après 24 heures. .	0	∞	0	∞	0

Réapparition du pouvoir bactéricide du sang citraté à 20 pour 1000
par dilution au quart et abaissement à 5 pour 1000 du taux du citrate

Application aux hémocultures

Nous avons appliqué notre procédé d'hémoculture au sang non dilué fortement citraté dans dix-huit septicémies ayant donné des hémocultures positives. Chacune de ces hémocultures concernant dix-sept malades différents fut faite simultanément sur divers milieux et totalisèrent soixante-treize essais.

Nous donnons un tableau d'ensemble de toutes ces hémocultures, puis un tableau de détail pour certaines d'entre elles. Le n° 8, concernant une fièvre typhoïde, a déjà été rapporté antérieurement (voir page 37).

Comme on peut le voir sur le tableau d'ensemble, toutes les hémocultures concernant le groupe coli-typique ont été positives en sang citraté (soit 9 sur 9). Les germes ont été visibles à l'examen direct après 24 ou 48 heures. Nous insistons sur le fait que les bactéries sont difficiles à distinguer des débris des globules sanguins, une excellente coloration est nécessaire. Le May-Grunwald-Giemsa, colorant les hématies en rose et les germes en violet, convient particulièrement bien.

On voit que les résultats de ces hémocultures confirment entièrement la notion que nous avons établie avec M. Carnot sur la destruction du pouvoir bactéricide du sang par une citratation à 20 pour 1000. Dans sept cas sur neuf nous avons fait un témoin de sang citraté à 5 pour 1000; les bactéries non seulement ne se sont pas développées, mais ont été détruites ou du moins n'ont pas été retrouvées en ensemençant 1/2 ou 1 cc. de sang dans un délai de deux ou trois jours. Il n'est pas impossible que, dans un certain nombre de cas, une observation plus prolongée ait révélé un développement tardif. C'est d'ailleurs ce que nous avons observé dans notre cas n° 6. Nous rappelons à ce sujet que M. Lermierre (41) (voir page 17) a obtenu des résultats positifs en défibrinant simplement le sang, mais que le développement fut *très tardif*. Nous rappelons aussi que Lebœuf et Braun en 1916 (39) ont proposé des hémocultures en sang

citraté (citrates à 5 pour 100, 1 cc.; sang, 2 cc.) soit citratation à 16 pour 1000 environ, ont rapporté de bons résultats mais n'ont pas noté la destruction du pouvoir bactéricide du sang.

En dehors du groupe coli-typhique nous signalons deux hémocultures positives avec germes visibles à l'examen direct en sang fortement citraté, une septicémie à anaérobie strict (*funduliformis*, n° 25), une brucellose (n° 23).

Pour les cocci prenant le Gram comme nous l'avons déjà dit, nous avons trouvé qu'ils ne se multiplient pas, inhibés par le citrate de soude à forte dose, les staphylocoques sont conservés et les streptocoques détruits, surtout le streptocoque viridans (n°s 12, 13, 14, 15, 16, 17, 24).

Nous n'avons pas d'expérience pour les germes hémophiles ni pour les méningocoques et gonocoques. Pour ces derniers germes, Grimberg et ses collaborateurs ont trouvé le citrate de soude à forte dose défavorable.

En résumé, la citratation à forte dose (20 à 40 pour 1000) rendra surtout des services pour remplacer éventuellement la bile pour les hémocultures des germes coli-typhiques. Cependant si l'on ne dilue pas le sang, comme dans les neuf essais ci-dessus rapportés, la multiplication est un peu moins rapide et moins intense que dans la bile, les germes ne devenant visibles à l'examen direct qu'après vingt-quatre heures, parfois quarante-huit heures d'étuve. On peut accélérer cette multiplication en associant à la citratation une légère dilution de l'ordre de celle utilisée couramment pour la bile, au 1/4 par exemple. Nous proposons la formule suivante :

Sérum physiologique à 8 pour 1000,	
citraté à 27 pour 1000.. . . .	15 cc.
Sang.	5 cc.

soit une citratation finale à 20 pour 1000;

soit beaucoup mieux :

Eau distillée citratée à 27 p. 1000..	15 cc.
Sang	5 cc.

soit encore une citratation finale à 20 pour 1000.

	SANG DILUÉ			SANG NON DILUÉ				
	en bouillon T	en gélose nutritive		CITRATÉ			LIQUOIDE	
		Aérobie boîte de Pétri	Anaérobie Gélose Veillon	5 p. 1000	20 p. 1000	30 à 40 p. 1000	1 p. 600	2 p. 600
1. b. Eberth.	+			0		+		
2. b. Eberth.	+			0		+		
3. Colibacille	+					+	+	
4. b. paratyphique B (angio- cholite)	+	+	+			+	+	
5. b. paratyphique B (f. ty- phoïde)	+			0	+(22°/o)	+	+	
6. Colibacille	+			0		+	+	
7. b. Eberth.	+			+	+	+	+	
10. Colibacille	+			0		+	+	
11. b. Eberth.	+			0	+	+	+	
12. Strepto viridans (e. Osler)	+			0 (10°/o)		0	+	
13. Staphylocoque	+					conservé		
14. Staphylocoque	+			+		+	+	
15. Staphylocoque	+			+		conservé	+	+
16. Strepto-hémolytique	+					0	+	
17. Pneumocoque.	+	0		0			+	
23. Brucellose	0			conservé		+	+	
24. Pneumocoque.	+			+	0	+	+	
25. <i>Bracillus funduliformis</i> . .			+		+		+	

Numération des germes par cc.	SANG DILUÉ à 1 p. 67	SANG NON DILUÉ	
		citraté 5 p. 1000	citraté 43 p. 1000
Demi-heure après l'ensemencement.	non recherché	0	0,5
Après 24 heures à 37°	0	0	450
Après 48 heures à 37°	plus de 100.000.000	0	plus de 100.000.000
N° 1 — <i>Hémoculture au cours d'une fièvre typhoïde</i> à bacille d'Eberth			

Numération des germes par cc.	SANG DILUÉ à 1 p. 50	SANG NON DILUÉ	
		citraté 5 p. 1000	citraté 39 p. 1000
Après 24 heures à 37°	0	0	6.000
Après 48 heures à 37°	plus de 100.000.000	0	plus de 100.000.000
N° 2 — <i>Hémoculture au cours d'une fièvre typhoïde</i> à bacille d'Eberth			

Ces deux premiers cas ont été publiés avec M. le professeur Carnot. Voici nos six autres cas inédits :

Nombre de germes par cc.	SANG DILUÉ	SANG NON DILUÉ		
	Sang. . 4 cc. B ^{on} T. 150 cc.	citraté 5,6 p. 1000	citraté 30 p. 1000	liquoidé
Après 24 h. à 37° . . .	++++	0	++	++
Après 3 jours à 37° . . .		0	∞	∞
N° 3 — <i>Hémoculture au cours d'une septicémie à colibacilles</i>				

Nombre de germes par cc.	SANG DILUÉ	SANG NON DILUÉ			
	Sang. . 10 cc. Eau peptonée glucosée 200 cc.	citraté 5 p. 1000	citraté 22 p. 1000	citraté 30 p. 1000	liquéfié 1 p. 600
Après 24 h. à 37° . .	∞ (1)	0	∞	∞	∞
Après 64 h.		0	∞	∞	∞
N° 4 — <i>Hémoculture au cours d'une fièvre typhoïde à bacille paratyphique B</i>					

(1) L'hémoculture en sang dilué n'a pas été faite ici avec les autres, mais vingt-quatre heures avant.

Nombre de germes par cc.	SANG DILUÉ à 1 p. 80	SANG NON DILUÉ	
		liquéfié 1 p. 600	citraté 30 p. 1000
Après 24 heures à 37° . .	∞	∞	∞
N° 5 — <i>Hémoculture au cours d'une angiocholite avec septicémie à paratyphique B</i>			

Nombre de germes par cc.	SANG DILUÉ à 1 p. 100	SANG NON DILUÉ			
		citraté 5 p. 100	citraté 18 p. 100	citraté 30 p. 100	liquéfié 1 p. 600
Après 14 heures d'étuve .	960	6	12.500	9.000	99
Après 36 h. .	∞	0 (1)	∞	∞	∞
N° 6 — <i>Hémoculture au cours d'une fièvre typhoïde à bacille d'Eberth</i>					

(1) Le tube de culture examiné après huit jours montre de nombreux bacilles. Les rares bacilles d'Eberth qui n'avaient pas été détruits ont tardivement pullulé.

Nombre de germes par cc.	SANG DILUÉ à 1 p. 80	SANG NON DILUÉ	
	Sang 5 cc. Bouillon T. . 400 cc.	citraté 30 p. 100	liquoïdé 1 p. 600
15 minutes après l'ensemencement		3	4
Après 24 heures	∞	300.000	18.000
Après 48 heures	∞	∞	∞
N° 7 — <i>Hémoculture au cours d'une pyélonéphrite avec septicémie à colibacille</i>			

Nombre de germes par cc.	SANG NON DILUÉ			
	oxalaté 1,5 p. 100 env.	liquoïdé 1 p. 500	citraté 0,5 p. 100	citraté 3 p. 100
	oxalate 3 p. 100 2 cc. sang: 2,5 cc.	liquoïde 1 p. 100: 1 cc. sang: 5 cc.	citrate 10 p. 100: 0,25 sang: 5 cc.	citrate 30 p. 100: 0,5 sang: 5 cc.
Après 48 h.	0	++	0	∞
Après 72 h.	∞	∞	0	∞
N° 9 — <i>Hémoculture au cours d'une péritonite biliaire avec septicémie à colibacille</i>				

++ Rares germes à l'examen direct.
 Nombreux germes à l'examen direct.

OXALATE DE SOUDE

L'action de l'oxalate de soude sur le pouvoir bactéricide du sang a été moins étudiée que celle du citrate de soude et nous n'avons rencontré qu'un travail où on le recommande pour les hémocultures, c'est celui de Dimitrijevic, Speth et Arsenisevic (17).

Ces auteurs n'attachent pas une importance capitale à la dose, et ils ont précisément choisi l'oxalate de soude plutôt que le citrate, car pour l'oxalate la dose bactéricide est plus loin de la dose anticoagulante et ainsi, disent-ils, le médecin réussira son hémoculture même s'il ne recueille que très peu de sang.

Ces auteurs conseillent donc de recueillir le sang sur oxalate et de l'envoyer au laboratoire, où il seraensemencé dans un milieu propice. Ils signalent toutefois que le streptocoque viridans meurt après deux jours dans le sang oxalaté à 2 pour 100, tandis qu'à 1 pour 100 le streptocoque se développe légèrement, encore mieux à 0,3 pour 100. Les autres germes, disent-ils, se multiplient partout à toute concentration.

Nos expériences personnelles, bien que limitées et n'intéressant que des bactéries de groupes coli-typhiques, nous ont donné des résultats tout à fait différents et nous obligent à faire les plus grandes réserves sur la valeur de ce procédé d'hémoculture. En effet, nous avons trouvé que le pouvoir bactéricide du sang oxalaté est parallèle à celui du sang citraté, c'est-à-dire variable avec la dose. Le sang oxalaté à 1 pour 1000 reste bactéricide; au contraire, le sang oxa-

Pouvoir bactéricide du sang oxalaté sur le bacille para B

Nombre de germes par cc.	SANG OXALATÉ							SANG CITRATÉ	
	1 p. 1000	2,5 p. 1000	5 p. 1000	10 p. 1000	15 p. 1000	5 p. 1000	20 p. 1000		
	citrate 1 p. 100; 0,5 cc. sang: QS p. 5 cc.	citrate 3 p. 100; 0,42 cc. sang: QS p. 5 cc.	citrate 3 p. 100; 1 cc. sang: QS p. 6 cc.	citrate 3 p. 100; 2 cc. sang: QS p. 6 cc.	citrate 3 p. 100; 3 cc. sang: QS p. 3 cc.	citrate 10 p. 100; 0,25 cc. sang: QS p. 5 cc.	citrate 20 p. 100; 0,5 cc. sang: QS p. 5 cc.		
Ensemencés	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000		
Après 4 h. 30 à 37°	0	0	2.500	12.000	10.000	0	0		
Après 22 h. à 37°	0	0	∞	∞	∞	0	0		
Après 48 heures . . .	0	0	∞	∞	∞	0	0		

L'oxalate de soude utilisé est $C^2O^4Na^2$
 Le citrate de soude utilisé est $(C^6H^5O^7Na^3)_2 + 11H^2O$

Nombre de germes par cc.	SANG OXALATÉ							SANG CITRATÉ	
	1 p. 1000	0001 d 5'Z	5 p. 1000	10 p. 1000	15 p. 1000	5 p. 1000	20 p. 1000		
	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000		
Ensemencés	0	0	1.200	10.000	10.000	0	45.000		
Après 4 h. 30 à 37°	0	0	0	0	∞	0	∞		
Après 22 h. à 37°	0	0	0	5.000	∞	0	∞		
Après 48 h. à 37°	0	0	0	∞	∞	0	∞		
Après 6 jours. . . .	0	0	0	∞	∞	0	∞		

Pouvoir bactéricide du sang oxalaté sur le bacille d'Eberth
 (Pour les détails des dilutions, voir l'expérience précédente)

laté à 10 ou 15 pour 1000 permet la multiplication des bactéries des groupes coli-typhiques.

Pour nos expériences, les solutions ont été faites avec le produit pur Rhone-Poulenc (R.P.) $C^2O^4Na^2$.

Nous avons essayé des doses progressives de 0,1 pour 100 à 1,5 pour 100, et dans la même expérience nous avons étudié à titre de comparaison la croissance des mêmes germes dans le sang citraté à 5 pour 1000 et dans le sang citraté à 20 pour 1000.

Pour ajouter l'oxalate au sang, nous avons utilisé une solution à 3 pour 100 (le sel étant insoluble à des concentrations supérieures). Ceci nous a obligé à mélanger à partie égale la solution d'oxalate et le sang pour obtenir un sang oxalaté à 1,5 pour 100; cette dilution du sang à 1/2 est susceptible à elle seule de diminuer légèrement le pouvoir bactéricide du sang. Cette cause d'erreur ne joue pas pour le sang oxalaté à 0,5 pour 100 et l'expérience conserve toute sa valeur dans son ensemble.

Voici encore une expérience similaire aux précédentes; toutefois, chaque centimètre cube de sang oxalaté futensemencé avec 700 germes seulement, c'est-à-dire une quantité beaucoup moindre.

Nombre de germes par cc.	SANG OXALATÉ à 0,1 p. 100	SANG OXALATÉ à 1 p. 100
	oxalate à 1 p. 100: 0,5 cc. sang: QS p. 5 cc.	oxalate à 3 p. 100: 3 cc. sang: QS p. 9 cc.
Ensemencés	700	700
Après 9 h. à 37°. .	0	6.000
Après 24 h. à 37°. .	0	∞
<i>Pouvoir bactéricide du sang oxalaté sur le bacille paratyphique B</i>		

Enfin, nous renvoyons à notre hémoculture n° 9 dans une septicémie à colibacille rapportée page 49. Nous avons obtenu un développement des germes dans le sang oxalaté à 1,5 pour 100 et dilué au 1/2 environ. Même à ces fortes

doses, le sang oxalaté s'est montré moins favorable que le sang fortement citraté.

Nous renvoyons encore à ce sujet à deux expériences comparatives avec le citrate de soude (rapportées au chapitre consacré au citrate, page 35).

CONCLUSIONS

L'oxalate de soude à dose anticoagulante minimum (de l'ordre de 0,1 pour 100) ne diminue pas le très énergique pouvoir bactéricide du sang pour les bactéries des groupes coli-typhiques. Nous pensons donc qu'il faut éviter pour les hémocultures de conserver le sang ainsi oxalaté avant son ensemencement. Au contraire, le sang fortement oxalaté (1,5 pour 100) perd son pouvoir bactéricide pour les mêmes germes qui se multiplient. Mais, à ces fortes doses, le sang oxalaté devient défavorable pour certains germes (streptocoque viridans), comme le disent Dimitrijévitch et ses collaborateurs eux-mêmes. Dans ces conditions, l'oxalate de soude nous paraît moins utilisable que le citrate de soude et le liquoïde.

LIQUOÏDE

ou

POLYANETHOL SULFONATE DE SOUDE

Demole et Reinert (16) en 1930 observent le rôle anticoagulant du polyanethol sulfonate de soude.

Battistini en 1932 (4) montre que ce corps inhibe le pouvoir bactéricide du sang; puis, en 1934, applique avec Massa (49) le procédé aux hémocultures.

Antoni et Cartalari appliquent également cette propriété du liquoïde aux hémocultures et publient leurs résultats en 1933 (2).

Nous n'avons pas pu lire l'article de Antoni et Cartalari. D'après Grilichess, ils mélangent 10 cc. de sang avec une solution de liquoïde à 0,5 pour 100, pour réaliser une concentration dans le sang comprise entre 0,5 et 1 pour 1000.

Nous avons au contraire pu consulter le texte original de Massa et Battistini qui indiquent une dose plus élevée :

Sang. 5 cc.

Liquoïde à 1 pour 100.. 1 cc. (stérilisé à l'autoclave)
soit une solution à 1 pour 600. Les auteurs indiquent qu'ils ont employé quelquefois une dose double.

Massa et Battistini insistent sur le fait que le pouvoir bactéricide est supprimé et que le sang est transformé en un bon milieu de culture. Cependant, habituellement ils attendent 48 ou 72 heures pour repiquer leur hémoculture, et ce n'est que dans un délai de deux à cinq jours que les germes deviennent visibles à l'examen direct.

Les auteurs eux-mêmes ne recommandent donc pas leur

procédé pour sa rapidité mais pour sa simplicité, sa sensibilité et sa polyvalence.

Divers auteurs ont employé la méthode ou vérifié expérimentalement sa valeur, notamment: de Gara et Gogliani (24), Grilichess (28), Van der Hoeden (32), Kardos (35), Niesner et Volencova (50), Sgalitzer (66), Shaw (67).

Ces auteurs confirment la valeur de la méthode et se louent de sa simplicité et de sa polyvalence puisqu'on peut faire multiplier des germes à exigences très diverses, par exemple aussi bien le bacille d'Eberth, que le méningocoque, le streptocoque viridans, et même *spirochæta ictero-hemorrhagiæ* d'après Hoeden (32).

Quelques-uns se plaignent cependant de la lenteur des cultures pour le bacille d'Eberth, tel Friedman d'après Grilichess (28).

Voici nos résultats personnels :

Nous avons d'abord vérifié que le polyanéthol sulfonate de soude aux doses indiquées par Massa et Battistini (1 pour 600) n'entrave pas la multiplication des bactéries dans le bouillon ordinaire. Nous avons constaté qu'il y a une très grande marge de sécurité, puisque nous avons pu sans inconvénient atteindre une concentration de 5 et même 10 p. 1000 pour les germes essayés (bacille d'Eberth, colibacille, *protéus vulgaris*, *staphylocoque*).

Nous avons d'autre part appliqué le procédé de Massa et Battistini dans 25 septicémies ayant donné des hémocultures positives. Chacune des hémocultures fut faite simultanément sur divers milieux qui totalisèrent 98 essais. Pour éviter une énumération fastidieuse de chacun de nos cas, nous les rapportons dans un tableau d'ensemble et nous reviendrons seulement en détail sur l'un ou l'autre de ces cas qui nous a paru mériter un commentaire particulier.

Les numéros d'ordre sont ceux de l'ensemble des hémocultures rapportées dans ce travail et dont certaines n'ont pas été faites en liquoïde. Tous ces numéros concernent des septicémies et des malades différents, sauf les n^{os} 14 et 15,

	SANG DILUÉ			SANG NON DILUÉ			
	en bouillon T	gélose nutritive		CITRATÉ		LIQUIDÉ	
		Aérobic boîte de Pétri	Anaérobic Gélose Veillon	5 p. 100	20 p. 100	30 à 40 p. 100	1 p. 600 2.5 p. 600
3. Colibacille	+					+	
4. b. paratyphique B (angio- cholite)	+	+	+			+	
5. b. paratyphique B (f. ty- phoïde)	+			0	+(22°/o)	+	
6. Colibacille	+			0		+	
7. b. de Friedlander Klebsiella pneumoniæ	+					+	
8. b. Eberth	+(en bile)					+(tardif)	
9. b. Eberth	+			+(très tardif)	+	+	
10. Colibacille	+			0		+	
11. b. Eberth	+(bouillon T et bile)			0	+	+	

12. Strepto viridans (e. Osler)	+			0 (10°/o)		0	+	
14. Staphylocoque	+			+		+	+	
15. Staphylocoque	+			+		conservé	+	
16. Strepto hémolytique	+					0	+	
17. Pneumocoque	+	0		0			+	
18. Strepto viridans (e. Osler)	+	+	++				+	
19. Diplococcus prahyngris siccus	+		+				conservé	
20. Anaérobies stricts.	+						+	
21. Bacillus Ramosus.	0		+				0	
22. Pneumocoque. en bile	0		+				0	
23. Brucellose	0			conservé		+	+	
24. Pneumocoque.	+			+	0	0	+	
25. Bacillus funduliformis. . .			+		+		+	
26. Strepto viridans (e. Osler)	+		+				+	
27. Streptocoque hémolytique.	+						+	
28. Brucellose abortus bovis. .							+	

+ Développement abondant avec nombreux germes à l'examen direct.

— Développement maigre et tardif.

0 Absence de développement.

qui concernent deux hémocultures successives dans une même staphylococcémie.

On voit que sur 23 hémocultures ayant donné des cultures positives, deux seulement ont été négatives en sang liquoïdé. Il s'agit des n^{os} 21 et 22. L'un concerne un bacille anaérobie strict qui ne donna que deux colonies en gélose Veillon après un séjour de plusieurs jours à l'étuve. L'autre concerne une bactériémie également très légère puisque une seule colonie de pneumocoque apparut en gélose Veillon. Dans ces conditions, ces deux résultats négatifs ne peuvent pas être retenus contre la méthode, car il n'est pas impossible que la partie du sang liquoïdée ne contînt pas de germes.

Par contre, il est certain que le développement a souvent été tardif et que parfois les germes ont été seulement conservés sans se multiplier. Pour les germes des groupes colityphiques nous avons trouvé des germes à l'examen direct après deux jours en général, alors que la bile répond en 10 à 24 heures. Dans le cas n^o 8, le bacille d'Eberth avait pullulé dans la bile après quinze heures et seulement après cinq jours dans le liquoïde. Certains auteurs ont déjà noté cette infériorité du liquoïde sur la bile, Friedmann par exemple. Massa et Battistini disent que les meilleurs résultats sont obtenus pour les pneumocoques et streptocoques.

Nous sommes de leur avis; cependant, nous rapportons ci-dessous, en détail, notre hémoculture n^o 18, concernant une endocardite d'Osler à streptocoque viridans. Cette hémoculture est intéressante à plusieurs points de vue. D'abord elle montre que si le streptocoque s'est très bien conservé en pleine vitalité et même lentement multiplié en sang liquoïdé, il n'est cependant pas encore visible à l'examen direct après 75 heures d'étuve. D'autre part, on voit que cette hémoculture a lentement et mal poussé aussi bien en bouillon T qu'en gélose ordinaire aérobie où les colonies, minuscules, étaient composées de germes très fragiles n'ayant pas repoussé par repiquage. Par contre les colonies étaient grosses et en pleine vitalité en gélose Veillon anaérobie. Ceci montre qu'il est indispensable d'utiliser la gélose Veillon comme témoin

	SANG DILUÉ 1 p. 80	SANG NON DILUÉ	SANG GÉLOSÉ	
	5 cc. de sang en eau peptonée 3 p. 100 glucosée 0,5 p. 100	5 cc. de sang liquoïdé à 1 p. 600	gélose Veillon anaérobie	gélose nutritive en boîte de Pétri
			sang: 1,5 cc. gélose: 20 cc.	sang: 1,5 cc. gélose: 20 cc.
Après 36 heures à 37°	Absence de germes à l'examen direct. Quelques gouttes, ensemencées en gélose Veillon, restent stériles.	Examen direct: 0. Quelques gouttes en gélose profonde Veillon donnent une centaine de colonies.	Une vingtaine de colonies bien visibles 1 à 2 ^{mm} .	0
Après 50 heures à 37°	Examen direct: 0. 1/2 cc. en gélose Veillon donne 4 colonies.	Examen direct: 0. En gélose Veillon: très nombreuses colonies.	»	22 colonies minuscules de streptocoque fragile, très difficile à repiquer.
Après 75 heures à 37°	Examen direct: rares streptocoques.	Examen direct: 0.	»	»
N° 18 <i>Endocardite d'Osler</i> — <i>streptocoque viridans</i>				

quand on propose un nouveau procédé de culture pour les endocardites d'Osler.

Nos hémocultures 20, 25 et 27, concernant des anaérobies stricts, montrent que les anaérobies stricts peuvent se développer en sang liquoïdé. D'autre part, nous avons obtenu le développement des microcoques dans deux brucelloses humaines. Dans le premier cas (n° 23) nous n'avons pas pu identifier le germe par les épreuves d'Huddleson, manquant des colorants américains; il poussait assez bien sur gélose sans atmosphère riche en gaz carbonique. La seconde souche, au contraire (n° 28), concerne certainement un abortus bovis, car les repiquages sur gélose furent infructueux sans addition de CO². M. le professeur Lisbonne, de Montpellier, que nous remercions vivement, a bien voulu étudier complètement cette souche et l'a classée comme abortus bovis. Ceci est d'un gros intérêt pratique, puisqu'il devient possible de faire pulluler abortus bovis à partir du sang de malades sans addition artificielle de CO². La qualité primordiale du procédé de Massa et Battistini est donc d'associer une grande simplicité à une grande polyvalence, puisqu'il permet la pullulation d'espèces bactériennes à exigences très diverses: anaérobies, méningocoques, gonocoques, brucella melitensis, brucella abortus bovis, streptocoques et même, d'après Høden (32), spirochæta ictero-hemorrhagiæ, etc...

En résumé, nous n'avons qu'à nous féliciter du procédé de Matta et Battistini pour sa simplicité et sa polyvalence; par contre, nous n'avons pas trouvé la méthode plus sensible qu'un témoin approprié. Par ailleurs, la lenteur des réponses non seulement pour le bacille d'Eberth, mais parfois pour d'autres bactéries telles que le streptocoque viridans, constitue un gros inconvénient de la méthode de Massa et Battistini et telle quelle, cette méthode nous paraît surtout remarquable d'une part pour le transport du sang avec conservation de toutes les bactéries, d'autre part comme milieu de culture pour sa polyvalence; mais si l'on veut une réponse rapide, une partie du sang recueilli sur liquoïde sera ensemencé en

milieu sélectif, par exemple sur bile, pour les germes des groupes coli-typhiques.

D'ailleurs, nous avons amélioré le procédé en ce qui concerne la rapidité des réponses, en lui associant une légère dilution du sang, dilution au quart qui n'enlève pas à la méthode ses qualités de simplicité. Il faut diluer non dans du sérum physiologique, mais dans l'eau distillée, suivant la formule :

Solution de liquoïde à 1 pour 100.. . .	3
Eau distillée.	9
Sang.	4

Nous avons obtenu ainsi des cultures extrêmement rapides pour le bacille typhique, plus rapides que dans la bile qui est jusqu'à présent le meilleur test d'excellence.

Nous rapportons dans le tableau suivant un de nos essais comparatifs à ce sujet :

Vitesse de multiplication du bacille d'Eberth comparée dans le sang liquoïdé, dans le sang liquoïdé dilué au quart et dans le sang dilué au quart dans la bile

Nombre de bacilles d'Eberth par cc.	SANG NON DILUÉ	SANG DILUÉ AU 1 p. 4		
	liquoïdé à 1 p. 600	dans l'eau liquoïdée à 1 p. 600	dans l'eau (coagulation partielle)	dans la bile
Ensemencés	800	800	800	800
Après 5 h. 30. . .	1.500	1.500.000	75	240.000
Après 24 heures. .	∞	∞	15.000	∞

Nous signalons que les bacilles d'Eberth présentent dans la culture abondamment développée un grand polymorphisme : éléments de taille variée avec nombreux éléments très petits, présence de longs filaments et de streptobacilles.

Cette formule nous a donné également un excellent résultat dans une septicémie à streptocoque hémolytique. Une numération faite au moment de l'ensemencement montrait 8 germes

par centimètre cube. Après 9 heures, la numération montrait des germes déjà plus nombreux dans le sang dilué et liquoïdé que dans le sang simplement liquoïdé. Après 20 heures d'étuve, l'examen direct montrait sur les frottis de sang liquoïdé non dilué une courte chaînette par champ, tandis qu'avec le procédé de sang liquoïdé dilué on observait de longues et nombreuses chaînettes dans chaque champ.

Si avec cette nouvelle formule la polyvalence reste identique (nous manquons encore de données à ce sujet), nous aurons un procédé ajoutant l'extrême rapidité du développement aux qualités de simplicité et de polyvalence que possédait déjà le procédé au liquoïde.

CONCLUSION

Nous avons résumé les opinions concernant l'importance du pouvoir bactéricide du sang au cours des hémocultures et énuméré divers procédés pour obvier à ce pouvoir bactéricide.

Nous avons particulièrement étudié la transformation du sang en un bon milieu de culture sans dilution par l'addition d'anticoagulants : citrate de soude, polyanéthol sulfonate de soude et oxalate de soude.

CITRATE DE SOUDE — $(C^6H^5O^7Na^3)^2 + 11H^2O$

Avec M. le professeur Carnot, nous avons montré que la citration du sang à 20 pour 1000 détruit le pouvoir bactéricide du sang, et que la dose a une importance capitale; que *les bactéries des groupes coli-typhiques* pullulent dans le sang ainsi citaté et que le procédé est applicable aux hémocultures. Nous avons obtenu neuf succès sur neuf cas avec cette méthode dans des septicémies des groupes Eberth-coli. La réponse est rapide: 24 heures, parfois 48 heures après la mise à l'étuve, un peu moins rapide qu'avec la bile; mais on accélère considérablement la méthode au citrate si on lui associe une légère dilution, par exemple au 1/4 comme dans le procédé à la bile.

Comme le procédé à la bile, le procédé au citrate est défavorable pour d'autres bactéries: le streptocoque viridans

est détruit dans le sang citaté à 20 pour 1000. Le streptocoque hémolytique s'y conserve mal. Le staphylocoque s'y conserve mais n'y pullule pas. Nous avons obtenu par contre la multiplication des germes dans une septicémie à bacille funduliformis et dans une brucellose.

Mécanisme: cette destruction du pouvoir bactéricide du sang citaté à 20 pour 1000 n'est pas due à une modification du pH; elle n'est pas définitive, mais au contraire réversible, réapparaissant par dilution secondaire au 1/4, ce qui ramène le taux de citrate à 5 pour 1000.

OXALATE DE SOUDE — $C^2O^4Na^2$

Nous avons trouvé l'action de l'oxalate de soude sur le pouvoir bactéricide du sang parallèle à celle du citrate de soude, c'est-à-dire essentiellement variable suivant la dose: à la dose minima anticoagulante de l'ordre de 1 pour 1000 l'action est nulle et le sang reste bactéricide; au contraire, à dose beaucoup plus forte, 10 ou 15 pour 1000, nous avons observé la destruction du pouvoir bactéricide du sang. L'oxalate de soude s'est montré moins favorable que le citrate de soude et nous pensons que ce produit n'est intéressant ni pour l'hémoculture ni pour le simple transport du sang au laboratoire.

LIQUOÏDE OU POLYANÉTHOL SULFONATE DE SOUDE

A la suite de Massa et Battistini et de divers auteurs, nous avons employé pour les hémocultures le liquoïde sans dilution du sang à la dose de 1 pour 600 (dose également très supérieure à la dose anticoagulante).

Nous avons appliqué le procédé dans 25 septicémies avec diverses hémocultures comparatives réalisant 98 essais. Nous pouvons confirmer l'intérêt de cette méthode en ce qui concerne sa polyvalence et sa simplicité. Nous avons obtenu

de bons résultats à la fois dans les septicémies des groupes Eberth-coli, dans des pneumococcies, pour des streptocoques hémolytiques et viridans, pour des anaérobies stricts, dans deux brucelloses, notamment l'une à abortus bovis sans addition de CO². D'autres auteurs ont signalé en outre la possibilité de cultiver le méningocoque et le gonocoque et même *spirocheta ictero-hemorrhagiæ*.

Par contre, nous ne nous sommes pas loué d'une sensibilité particulière. Nous n'avons obtenu en sang liquoïdé aucune culture positive qui n'ait également poussé sur un témoin approprié. Par ailleurs, la lenteur des réponses, notamment pour les germes des groupes Eberth-coli, sont à notre avis un gros inconvénient de la méthode de Massa et Battistini et, telle quelle, elle nous paraît surtout remarquable : d'une part pour le transport du sang avec conservation de toutes les bactéries; d'autre part comme milieu de culture, vu sa polyvalence; mais si on veut une réponse rapide, onensemencera une partie du sang liquoïdé en milieu sélectif, par exemple en bile pour les germes des groupes coli-typhique.

D'ailleurs, nous avons amélioré le procédé au liquoïde en ce qui concerne la rapidité des réponses, en lui associant une légère dilution du sang, dilution au quart, qui n'empêche pas cette méthode d'être simple; il faut diluer non dans du sérum physiologique, mais dans de l'eau distillée suivant la formule :

Solution de liquoïde à 1 pour 100. . . .	3
Eau distillée.	9
Sang.	4

Nous avons obtenu ainsi des cultures extrêmement rapides pour le bacille typhique, parfois plus rapides que dans la bile, qui est jusqu'à présent le meilleur test d'excellence (bile, 12 cc.; sang, 4 cc.).

Nous avons obtenu également avec cette formule une hémoculture beaucoup plus rapide que dans le sang liquoïdé non dilué, au cours d'une septicémie à streptocoque hémolytique.

Si la polyvalence reste identique (nous manquons encore de données à ce sujet) nous aurons un procédé ajoutant l'extrême rapidité du développement aux qualités de simplicité et de grande polyvalence que possédait déjà le procédé au liquoïde.

VU :

Le Président de thèse,

P. CARNOT.

VU et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

ROUSSY.

VU :

Le Doyen : TIFFENEAU.

BIBLIOGRAPHIE ⁽¹⁾

AGASSE-LAFONT. — Voir Grimberg A.

1. ALIVISATOS (G. P.). — *Technique d'hémoculture dans les streptococcies* (1933, Centralbl. f. Baktl., 129, p. 111; 1935, Centralbl. f. Baktl., 134, p. 259).
2. ANTONI (V. DE) et CARTALARI (O.). — *Action inhibitrice du liquoïde dans les hémocultures* (1933, Boll. Istit. Sier. Milanese, 12, p. 618-631).

ARSENIJENIC. — Voir Dimitrijénic.

3. BAIOCCHI. — *Bactériémies pré et post-opératoires dans les opérations aseptiques; hémocultures comparatives; valeur du polyanéthol sulfonate de soude* (1938, Giorn. di batteriol. e immunol., 21, p. 63-86).

BATTISTINI (G.). — Voir Massa.

4. BATTISTINI (G.). — *(Pouvoir antialexique du polyanéthol sulfonate de soude)*. 1932, Fisiol e med., n° 4; 1932, Giom. clin. med., n° 12.

BEACH ET BELL. — Voir Irwin.

5. BOARI (D.). — *Usage d'un nouvel anticoagulant « sodium méthylène sulfoxyate » pour préparer les cultures* (1938, Giorn. di clin. med., 19, p. 99-108).
6. BOEZ. — *Dispositif pour l'hémoculture aéro-anaérobie en milieu solide* (1924, C.R.S.B., 91, p. 1276).
7. BOEZ. — *Influence du pH sur le pouvoir bactéricide du sang pour le bacille typhique* (1930, C.R.S.B., 104, p. 40).
8. BOEZ ET ROBIN. — *(Influence du pH sur le pouvoir bactéricide du sang — hémoculture en citrate acide; — sur la destruction*

(1) Les titres entre parenthèses sont incomplets ou résumés.

du pouvoir bactéricide du sang — application à l'hémoculture
1929, C.R.S.B., 106, p. 358.

- 8 bis. BOEZ et MARNEFFE. — *Influence de la concentration saline (NaCl) sur le pouvoir bactéricide du sang — application aux hémocultures* (1931, C.R.S.B., 106, p. 358-360).

BONNAFOUS (J.). — *Voir Lebœuf.*

9. BONNET (H.) et NÉVOT (A.). — *Travaux pratiques de bactériologie* (1936, Masson éd., Paris).

10. BORDET (J.). — 1895, Ann. soc. roy. sci. méd. nat., Bruxelles.
BRAUN (P.). — *Voir Lebœuf.*

BARBANK (R.). — *Voir Hadjopoulos (L.-G.).*

11. CALLAU (A.-M.). — *Simple faits sur les hémocultures* (1937, Am. J. M. technol., 3, p. 8-15).

12. CARNOT (P.) et LAVERGNE (H.). — *Sur les modifications apportées au pouvoir bactéricide du sang par le citrate de soude* (1936, C.R.S.B., 122, p. 1249).

13. CARNOT (P.) et LAVERGNE (H.). — *Culture directe dans le sang non dilué mais citraté des bactéries des groupes Eberth-coli, technique d'hémoculture* (1937, C.R.S.B., 124, p. 722).

14. CARTNEY (Mc. J.E.). — *Méthode simple d'hémoculture* (1931, The Lancet, 1, p. 583-84).

CATTAN. — *Voir Fiessinger.*

15. COURMONT (J.). — *Sur la présence de bacille d'Eberth dans le sang des typhiques* (1901, Soc. méd. hôp. Paris).

COLEBROOK (L.). — *Voir Douglas.*

16. DEMOLE et REINERT. — *(Action de polyanéthol sulfonate de soude sur la coagulation du sang)* 1930, Arch. f. exper. Bath. pharmak, 158, p. 211.

17. DIMITRIJEVIC, SPETH et ARSENIJEVIC. — *Le sang oxalaté, matériel simple, pour l'agglutination, l'hémoculture, les essais sur les animaux, la mise en évidence des virus et recherches microscopiques* (1936, Zentralbl. F. Bakt., 136, p. 497).

18. DOUGLAS (S. R.) et COLEBROOK (L.). — *L'avantage d'un milieu trypsiné pour les hémocultures* (1916, Lancet, p. 180).

19. DULANEY (A.D.) et GUTHRIE (F.). — *Croissance des bactéries du sang circulant dans le sang défibriné* (1937, J. lab. et clin. méd., 22, p. 721-722).

20. DUMONT (J.). — *L'hémoculture* (1931, La Biologie Médicale, n° 6).
21. FIESSINGER (N.). — *Physio-pathologie des traversées chimiques et bactériennes dans l'organisme* (Masson édit., 1934).
22. FIESSINGER et CATTAN. — *Pouvoir bactéricide du sérum et du plasma à l'égard du bacille d'Eberth* (1928, Presse médic.).
23. FIESSINGER et CATTAN. — *La micro-leucocyto-culture* (1928, Soc. Méd. Hôp. Paris, p. 1476).

FINKELSTEIN (M. H.). — Voir Mackie.

24. GARA (DE) et GOGLIANI (G.). — *Usage du polyanéthol sulfonate de Na pour l'hémoculture, valeur diagnostique* (1936, Boll. d'Ist. Sieroterop. Milanese, 15, p. 171-181).
25. GASTINEL (P.). et REILLY (J.). — *Sémiologie générale de l'état septicémique* (Paris 1927, Congrès français de médecine, p. 1 à 107; Masson édit.).
26. GORY (M.) et JAUBERT (A.). — *Procédé pratique d'hémoculture anaérobie* (1933, Presse médicale, p. 123).
27. GOSSELIN (O.). — *Simple et pratique méthode pour la culture simultanée des germes aérobies et anaérobies* (1936, Bruxelles Médical, 16, p. 733-734; 1935, Presse Méd., 43, p. 499).
28. GRILICHESS (R.). — *Amélioration des techniques d'hémocultures* (1935, Schweiz, med. Wochenscher, 31, p. 699).
29. GRIMBERG (A.), MUTTERMILCH (S.) et AGASSE-LAFONT (E.). — *L'action inhibitrice du citrate de soude sur le pouvoir bactéricide du sang humain* (1936, C.R.S.B., 123, p. 1045); — *Contribution expérimentale à la technique des hémocultures par dilution du sang en bouillon* (1937, C.R.S.B., 125, p. 26).
30. GRIMBERG (A.), MUTTERMILCH (S.), AGASSE-LAFONT (E.), PELLIER (Mlle H.). — *Mécanisme de l'action favorable de la bile sur les hémocultures des germes des groupes coli-typhiques* (1937, C.R.S.B., 125, p. 613-615); — *Application de la technique des hémocultures en sang citraté et en bilié à l'isolement des streptocoques* (1937, C. R. S. B., 125, p. 695-697).

GUTHRIE (F.). — Voir Dubaney.

31. HADJOPOULOS (L. G.) et BURBANK (R.). — *L'alexine et les substances antialexiques dans les techniques d'hémoculture* (1930, J. lab. et clin. méd., 15, p. 669-671).

32. VAN der HEDEN (J.). — *Usage du polyanéthol sulfonate de soude dans les hémocultures* (1937, Nederl tijdschr. v. Genesesk, 81, p. 10-16).
33. HALL. — *Action des acides dilués dans les hémocultures* (1922, Journ. pathol. a bacteriol, p. 297-304).
34. IRWIN (M. R.), BEACH (B. A.) et BELL. — *Etude sur l'action du pouvoir bactéricide du sang total et du sérum envers brucella abortus et brucella suis* (1936, The journ. of infection diseases, 58, p. 15-23).
- JAUBERT. — *Voir Gory.*
35. KARDOS (F.). — *Hémocultures par la méthode de Massa et Battistini* (1935, Bratisl. lekar. I, p. 990).
- KORTMANN (T.). — *Voir Pfannenstiel.*
36. KOSCHATE. — *Influence des substances anticoagulantes sur le pouvoir bactéricide du sang* (1930, Zentralbl. f. Bakt., 128, p. 60).
- LAMBIN (Mlle S.). — *Voir Régnier (J.).*
37. LANE (E.-F.). — *Amélioration de la technique des hémocultures* (1928, J.A.M.A., 90, p. 910).
- LAVERGNE (H.). — *Voir Carnot.*
38. LEBŒUF (A.), BONNAFOUS (J.), BRAUN (P.). — *Note sur un procédé d'hémoculture en bouillon citraté* (1915, C.R.S.B., 78, p. 662-665).
39. LEBŒUF (A.) et BRAUN (P.). — *Note sur la technique de l'hémoculture au cours des états typhoïdes; l'hémoculture dans l'urine...* (1916, C.R.S.B., 79, p. 157).
40. LEBŒUF (A.) et BRAUN (P.). — *L'hémoculture sur bile sèche* (1916, C.R.S.B., p. 212).
41. LEMIERRE (A.). — *Un procédé simple d'ensemencement du sang* (1903, C.R.S.B., p. 1296-1298).
42. LEMIERRE (A.). — *L'ensemencement du sang pendant la vie, procédé d'investigation clinique* (Thèse, Paris 1904).
43. LIMA (C.). — *Hémocultures dans les endocardites* (1924, Ann. paulistos de med. e cirurg., 27, n^{os} 3 et 4).
44. LISBONNE (M.). — *L'hémoculture dans les brucelloses* (1936, Le journal médical français, 25, p. 101).
45. LUSENA. — *Hémoculture et novirudine* (1929, Boll. Tst. Sierot. VIII, p. 539-550).

46. MACKIE (T.J.) et FINKELSTEIN (M. H.). — *Les bactéricidines du sérum normal chez divers animaux et la sensibilité de différentes bactéries à leur action* (1932, The Journal of Hygiene, 22, p. 1.).
47. MANBY (L.S.) et SACLHOF (C.). — *Amélioration de la méthode d'hémoculture* (1933, J. lab. et clin. méd., 19, p. 203-204).
48. MARNEFFE. — *Recherches de L. Boez sur le pouvoir bactéricide du sang normal* (1930, Arch. Inst. Pasteur d'Indochine).
- MARNEFFE. — Voir Boez.
49. MASSA (M.) et BATTISTINI (G.). — *Procédé simple et efficace d'hémoculture et de recherches directes de micro-organismes dans le sang* (1934, Zentralbl. f. Bakt, 131, p. 241).
- MORRISS (J. F.). — Voir Sellers.
- MUTTERMILCH (S.). — Voir Grimberg (A).
- NEVOT (A.). — Voir Bonnet (H.).
50. NIESNER (F.) et VOLENCOVA (V.). — *Culture des bactéries pathogènes à partir du sang* (1934, 30, p. 1529-1530).
51. OTTENBERG (R.). — *Hémocultures différentielles* (1930, J.A. M.A., 94, p. 1896-1901).
52. PATOCKA (F.). — *Etudes relatives à la méthode de l'hémoculture* (1934, Cas. lek. ées).
53. PATOCKA (F.). — *Méthode nouvelle de culture des microbes aérobies et anaérobies stricts provenant du sang* (1936, C.R. S.B.).
- PELLIER (Mlle H.). — Voir Grimberg.
54. PETTERSON (A.). — Diverses notes sur les β -lysines :
1927-28, Z Immunitäts farsch, p. 54 et 292;
1934, Seitschr f. Immun farsch, 82, p. 165; 83, p. 335;
1936, Revue d'Immunologie, n° 3, p. 288.
55. PFANNENSTIEL (W.). — *Contribution à l'étude de l'action anti-bactéricide et anticomplémentaire de la bile* (1927, Z. Immun. farsch, 52, p. 445).
56. PFANNENSTIEL (W.) et KORTMANN (T.). — *L'emploi du taurocholate de soude pour la mise en évidence des bactéries pathogènes d'origine intestinale* (1928, Münchener medizin Wohnschr, 76, p. 408-409).
57. RANQUE et SENEZ. — *Hémoculture rapide par ensemencement du sang désalexiné* (1930, C.R.S.B., 84, p. 799-800).

58. RECHNIEWSKI (C.). — *Hémoculture dans l'étude bactériologique du sang: technique* (1930, Prensa med. argent., 16, p. 1584-1588).
59. REGNIER (J.) et LAMBIN (Mlle S.). — *Contribution à l'étude de numération des microbes. Dénombrement des colonies développées sur milieux nutritifs solidifiés* (1934, Bulletin des sciences pharmacologiques, 49, p. 7-78).
60. REICHEL (H.). — *Méthode recommandable pour mettre en évidence les bactéries dans le sang circulant* (1936, Wien-Klin. Wchnschr, 49, p. 784-786).
- REILLY. — Voir Gastinel.
- REINERT. — Voir Demole.
- ROBIN. — Voir Boez.
61. ROSENTHAL (G.). — *Emploi du citrate de soude pour l'hémoculture, etc...* (1917, C.R.S.B., p. 856).
62. SACQUEPÉE et PERQUIS. — *Le bacille d'Eberth dans le sang des typhiques* (1903, Soc. méd. Hôp. de Paris, 11 juin).
63. SACQUEPÉE. — *(Milieux savoneux)* 1916, Bull. et mém. S.M. H.P., p. 448 et note.
- SACLHOF (C.). — Voir Manby (L. S.).
- SENEZ. — Voir Ranque.
- SPETH. — Voir Dimitrijénic.
64. SOUDDER (S. A.). — *Technique pratique d'hémoculture* (1932, J. lab. et clin. méd., 18, p. 205-206).
65. SELLERS (T. F.) et MORRIS (J. F.). — *Broyage des caillots du sang coagulé pour cultures* (1930, Ann. J. Pub. Health, 20, 195-196).
66. SGALITZER (G.). — *Présence de bactéries pathogènes dans le sang circulant* (1935, Zentralbl. f. Bakt, 134, p. 393-398).
67. SHAW (F.W.). — *Croissance des bactéries pathogènes dans les sangs immuns* (1933, J. lab. et clin. méd., 19, p. 203-204).
68. STAINSBY (W.J.) et NICHOLLS (E.T.). — *Examen bactériologique du sang* (1932, J. lab. et clin. méd., 17, p. 566-573).
- VALENCOVA (V.). — Voir Niesner.
69. VESTERDAL JORGANSEN (J.). — *Expériences sur la culture des bactéries à partir du sang* (1936, Hospitalstid, 79, p. 611-619).

70. WRIGHT. — *Technique of the teat and capillary glass tube* (London, 1921).
71. WURTZ (J. G.) et SAPPINGTON (S.W). — *Méthode simple d'hémoculture* (1918, Journ. of. méd. Research, 38, p.371-378).
-

TABLE DES MATIÈRES

GÉNÉRALITÉS	13
A) <i>Le pouvoir bactéricide du sang</i>	13
B) <i>Le pouvoir bactéricide du sang au cours des septicémies</i>	15
C) <i>L'inconvénient du pouvoir bactéricide du sang dans les</i> <i>hémocultures et les moyens d'y obvier</i>	16
Dilution	17
Séparation du sang et des bactéries	18
Addition de produits chimiques efficaces	18
— — — inefficaces	22
Procédés particuliers (milieux solides)	23
TECHNIQUES UTILISÉES DANS CE TRAVAIL	24
CITRATE DE SOUDE	29
<i>Action sur le pouvoir bactéricide</i>	29
<i>Mécanisme</i>	41
<i>Applications aux hémocultures</i>	44
OXALATE DE SOUDE	50
LIQUOÏDE	54
CONCLUSIONS	63



